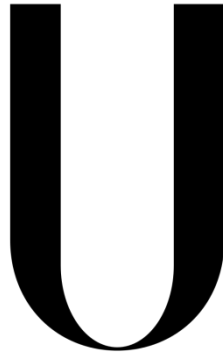


Universidade de Lisboa
Faculdade de Medicina Dentária



LISBOA

UNIVERSIDADE
DE LISBOA

**Utilização do L-PRF na microcirurgia endodôntica:
Uma descrição de casos**

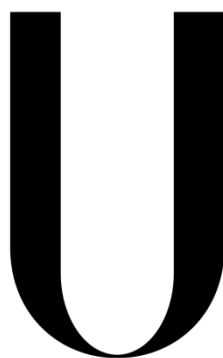
Cristina Fonseca Viana

Dissertação

Mestrado Integrado em Medicina Dentária

2018

Universidade de Lisboa
Faculdade de Medicina Dentária



LISBOA

UNIVERSIDADE
DE LISBOA

Utilização do L-PRF na microcirurgia endodôntica:

Cristina Fonseca Viana

Dissertação orientada
Pelo Prof. Doutor António Ginjeira

Mestrado Integrado em Medicina Dentária

2018

*Para os meus filhos, para o meu marido e para a minha mãe:
Por vocês e para vocês, tudo farei para ser possível.
Obrigada por acreditarem em mim.*

Agradecimentos

A conclusão de um projeto académico, é um momento de felicidade e de realização pessoal. Não menos importante é todo o seu percurso. Agradeço a todos os que, de alguma maneira me acompanharam neste caminho, das mais variadas formas, pelo que a todos um grande sorriso e um sincero obrigada.

Ao Professor António Ginjeira, por ter aceite orientar este trabalho, pela sua preciosa ajuda, paciência, boa disposição, amizade e pelos seus ensinamentos sempre com o maior rigor. Pela referência que representa na sua bonita profissão, pela qual, sempre tão dedicado e apaixonado.

Ao Dr. Pedro Cruz, pela amizade, pelos ensinamentos partilhados, dedicação e pela pessoa que é, a nível pessoal, profissional e ético.

Ao Dr. José Gouveia, Dr. Diogo Monteiro e ao Dr. Filipe Cortesão pela partilha de casos clínicos, pelo interesse demonstrado e pela atenção permanente e oportuna, fundamentais para a consecução deste projeto.

Ao Dr. Leonel González, pela simpatia e cordialidade, pela partilha de conhecimentos e ajuda fundamental na constante procura do conhecimento e das tecnologias mais atuais.

A todos os colegas, docentes e funcionários da Faculdade de Medicina Dentária, por todos os momentos em que houve entreajuda, compreensão, alegria e partilha.

Aos meus filhos João Maria e Carminho, por serem a minha eterna fonte de inspiração. Ao meu marido pela paciência, compreensão e por todos os momentos de ajuda que me dedicou. À minha mãe, pelo amor e dedicação incondicional.

Lista de Abreviaturas

A-PRF	<i>Advanced Platelet Rich Fibrin</i>
bFGF	Factor de Crescimento Fibroblástico
CBCT	<i>Cone Bean Computerized Tomography</i>
EGF	Factor de Crescimento Epitelial
FC	Factor de Crescimento
FGF	FC Fibroblástico
IGF	FC Insulina
IL	Interleucina
i-PRF	<i>Injectable Platelet Rich Fibrin</i>
L-PRF	Fibrina Rica em Plaquetas e Leucócitos
L-PRP	Plasma Rico em Plaquetas e Leucócitos
MTA	Agregado Trióxido Mineral
PC	Concentrados Plaquetários
PRP	Plasma Rico em Plaquetas
PPP	Plasma Pobre em Plaquetas
PRGF	Plasma Rico Factores de Crescimento
PDGF	Factor de Crescimento Plaquetário
SIC	Verbalização exata do paciente
TGF-β	FC Transformador Beta
TNF-α	FC Transformador Alfa
VEGF	FC Vascular

Resumo

Objetivos: Efetuar uma revisão da literatura existente, relativamente à eficácia da utilização de Fibrina Rica em Plaquetas e Leucócitos (L-PRF) como adjuvante do processo de cura, após microcirurgia endodôntica a propósito de 7 casos clínicos.

Materiais e Métodos: A pesquisa bibliográfica foi realizada na base de dados Medline (PubMed) e foi baseada em artigos com datas de publicação desde Julho de 2000 até Abril de 2018. Utilizaram-se para o efeito as seguintes palavras-chave: Fibrina Rica em Plaquetas e Leucócitos, Concentrados Plaquetários, Cirurgia Endodôntica, Microcirurgia Endodôntica, Cirurgia Apical, Lesão Periapical, Quisto Radicular, Cicatrização e Regeneração Tecidual. A pesquisa foi filtrada pelos formatos: Meta-Análises, Revisões Sistemáticas, Ensaio Clínicos Randomizados, e Relatos de Casos. Os critérios de inclusão consistiram em artigos publicados nos últimos 18 anos e disponíveis em inglês.

Resultados: Com base na pesquisa bibliográfica, foram obtidos 1328 artigos, dos quais 47 foram selecionados para inclusão nesta descrição de casos, e outros 33 adicionais foram obtidos a partir das referências bibliográficas de outros artigos, ou sugeridos pelo Professor Orientador, totalizando 80 artigos.

Discussão e Conclusão: De acordo com a literatura científica, O L-PRF apresenta um processo de preparação simples, obtendo-se uma membrana de fibrina rica em plaquetas, leucócitos e fatores de crescimento potencialmente estimulantes do crescimento ósseo e tecidual. Na prática clínica de Endodontistas, a utilização do L-PRF na microcirurgia endodôntica demonstra resultados seguros e promissores, pelo que é considerada vantajosa, em situações clínicas particulares. No entanto, é ainda necessária a caracterização mais detalhada deste biomaterial e da composição das suas biomoléculas, com vista à compreensão efetiva do seu efeito benéfico no processo de cura, após microcirurgia endodôntica.

Palavras – Chave: Fibrina Rica em Plaquetas e Leucócitos, Concentrados Plaquetários, Cirurgia Endodôntica, Microcirurgia Endodôntica, Cirurgia Apical, Lesão Periapical, Quisto Radicular, Cicatrização e Regeneração Tecidual.

Abstract

Objetives: To review the existing literature on the efficacy of Rich Fibrin in Platelets and Leucocytes (L-PRF) as an adjunct to the healing process after endodontic microsurgery performed in 7 clinical cases.

Materials and Methods: The literature search was carried out in the Medline database (PubMed) and was based on articles with publication dates from July 2000 until April 2018. The following keywords were used: Leukocyte and Platelet-Rich Fibrin, Platelet Concentrates, Endodontic Surgery, Endodontic Microsurgery, Apical Surgery, Periapical Lesion, Radicular Cyst, Healing and Tissue Regeneration. The research was filtered through the formats: Meta-Analyzes, Systematic Reviews, Randomized Clinical Trials, and Case Reports. The inclusion criteria consisted of articles published in the last 18 years and available in English.

Results: Based on the bibliographical research, 1328 articles were obtained, of which 47 were selected for inclusion in this case series, and others 33 were obtained from the bibliographical references of other articles, or suggested by the Adviser Professor, totalling 80 articles.

Discussion and Conclusion: According to the scientific literature, L-PRF presents a simple preparation process, obtaining a fibrin membrane rich in platelets, leukocytes and growth stimulating factors of bone and tissue growth. In the clinical practice of Endodontists, the use of L-PRF in endodontic microsurgery demonstrates safe and promising results and is therefore considered advantageous in particular clinical situations. However, a more detailed characterization of this biomaterial and the composition of its biomolecules is still necessary, in order to effectively understand its beneficial effect in the healing process, after endodontic microsurgery.

Key Words: Leukocyte and Platelet-Rich Fibrin, Platelet Concentrates, Endodontic Surgery, Endodontic Microsurgery, Apical Surgery, Periapical Lesion, Radicular Cyst, Healing and Tissue Regeneration.

Índice

<u>Agradecimentos</u>	II
<u>Lista de Abreviaturas</u>	III
<u>Resumo</u>	V
<u>Abstract</u>	VII
1. <u>Introdução</u>	1
1.1 Processo de reparação e regeneração tecidual	3
1.2 Utilização de concentrados plaquetários	4
1.2.1 Concentrados plaquetários: duas gerações evolutivas	5
1.2.2 L-PRF: Fibrina Rica em Plaquetas e Leucócitos	6
1.2.3 Protocolos A-PRF e i-PRF: Otimização do L-PRF	10
1.3 Procedimentos de Endodontia Regenerativa	10
2. <u>Materiais e Métodos</u>	11
3. <u>Descrição de Casos Clínicos</u>	12
3.1. Caso Clínico 1	14
3.2. Caso Clínico 2	16
3.3. Caso Clínico 3	17
3.4. Caso Clínico 4	19
3.5. Caso Clínico 5	20
3.6. Caso Clínico 6	21
3.7. Caso Clínico 7	23
4. <u>Discussão</u>	25
5. <u>Conclusão</u>	30
6. <u>Bibliografia</u>	31
7. <u>Anexos</u>	42

1. Introdução

A cirurgia endodôntica é definida como um retratamento endodôntico via retrógrada que necessita de acesso cirúrgico. (Cruz, P. *et al.*, 2010)

De acordo com Kim, S. & Kratchman, S. (2006), o paradigma clássico da cirurgia endodôntica estava fortemente associado a atos cirúrgicos apoiados em materiais inapropriados, visão inadequada, pós-operatórios complicados e elevadas taxas de falha, que culminavam em exodontias inevitáveis. Tendo como base a premissa de que o sucesso da cirurgia endodôntica depende da total eliminação de tecido necrosado e da completa selagem de todo o sistema canalar, tornam-se evidentes as razões de falha da cirurgia com base na abordagem cirúrgica convencional. Na ausência de ferramentas cirúrgicas adequadas, torna-se verdadeiramente complicado localizar, limpar e identificar e selar adequadamente, as ramificações anatômicas do complexo sistema canalar e apical.

No início de 1990 surgiu uma nova geração denominada de microcirurgia endodôntica, graças ao recurso a instrumentos microcirúrgicos específicos, tais como microscópio e instrumentos ultrassônicos, associados ao desenvolvimento de materiais de selagem apical mais eficazes e biocompatíveis. As vantagens da microcirurgia endodôntica incluem: facilidade na manipulação dos ápex radiculares, osteotomias mais precisas e conservadoras, maior preservação da cortical óssea e do comprimento radicular. Adicionalmente, a preparação da superfície radicular com o auxílio de ampliação e iluminação, permite a visualização de detalhes anatômicos, que seriam muito difíceis de identificar através da abordagem convencional tais como, istmos, micro-fraturas e canais laterais. A utilização de instrumentos ultrassônicos, juntamente com o microscópio, permite do ponto de vista do Endodontista: preparações conservadoras, precisas e selagens apicais que satisfazem os requisitos mecânicos e biológicos da cirurgia endodôntica (Kim, S. & Kratchman, S., 2006).

Os critérios de decisão para efetuar um retratamento endodôntico via cirúrgica, baseiam-se na existência prévia de critérios de insucesso no tratamento endodôntico convencional, ou ainda, na resolução de uma patologia periodontal apical ou lateral de origem endodôntica, de modo a evitar a sua recorrência. Também, a existência de barreiras e dificuldades existentes para o tratamento endodôntico convencional, como por exemplo, a existência de espigões e parafusos intra-radiculares, ou de instrumentos fraturados ou a necessidade imperiosa de remoção de coroas, para se garantir o acesso

convencional, equacionam a necessidade de efetuar uma cirurgia endodôntica (Rubinstein, RA. *et al*, 2000).

A microcirurgia endodôntica, integra vários passos cirúrgicos, tais como: incisão, retalho, descolamento, osteotomia, apicectomia, preparação apical, obturação retrógrada e sutura. No sentido de minimizar o dano tecidual, já não se recomenda o retalho em forma semilunar, mas sim, retalhos sulculares de espessura total e incisões verticais - diminui-se o risco de recessão, hemorragia, promove-se mecanicamente a cicatrização e garante-se o acesso cirúrgico (Zimmermann, U. *et al.*, 2001).

Apesar dos avanços técnicos atuais, é inevitavelmente um procedimento invasivo que traumaiza tecidos moles (Velvart, P. *et al.*, 2004).

Adicionalmente, a presença de lesões apicais de grandes dimensões também afeta a biodinâmica de tecidos duros (Jayalakshmi, K.B. *et al.*, 2012).

De acordo com Thomas Dietrich, et al., (2002) as lesões apicais podem ser classificadas em IV classes, de acordo com as suas características morfológicas e patogénicas: classe I – lesões periodontais e endodônticas concomitantemente, classe II – lesões periapicais ou endodônticas puras, classe III – lesões que resultam de deiscências e classe IV – miscelâneas. Em todas as classes descritas, há dano (predominantemente perda) de tecido ósseo.

As lesões apicais podem ser granulomas ou quistos. Histologicamente, diferem na medida em que, os quistos possuem revestimento epitelial. Ambas as condições patológicas surgem como consequência de uma inflamação, normalmente associada a necrose pulpar e inerente libertação de toxinas pulpares ao nível do ápex (Kim, S. & Kratchman, S., 2006). A patogénese de um quisto inicia-se pela formação de um granuloma que evolui para quisto, envolvendo o osso, ligamento, dente e outras estruturas anatómicas adjacentes (Nair, PN., 2000).

É aceite que um granuloma evolui para cura após tratamento endodôntico, porém, quando se trata da presença de um quisto apenas a intervenção cirúrgica garante a completa remoção da lesão, não invalidado a possibilidade de recorrências (Gorni F. *et al.*, 2004).

Os critérios de sucesso da microcirurgia endodôntica, dependem não só da completa selagem dos canais radiculares e preenchimento apical que impedem a ação bacteriana, mas também, do envolvimento periodontal na etiologia das lesões, e principalmente, dos defeitos ósseos adjacentes às respetivas lesões (Kvist, T. *et al.*, 2012). Num estudo de Wang, N. *et al.*, 2004, em que se relacionou o grau de

cicatrização com o tamanho radiográfico da lesão pré – operatória; dentes com lesões associadas de menores dimensões (< 5mm) apresentavam melhores *outcomes*, do que dentes com lesões associadas de dimensões superiores a 5 mm. Após a completa remoção da lesão e manipulação óssea, foi encontrada uma correlação significativa entre criptas ósseas de maiores dimensões e processos de cicatrização malsucedidas ou com critérios de cura no domínio do incerto.

Quando o processo patológico de formação da lesão apical resulta na completa perda de osso marginal, o sucesso da microcirurgia endodôntica situa-se entre os 27% e os 37%. A razão deste prognóstico, prende-se com a formação de um longo epitélio juncional sobre a superfície radicular, o que torna a reparação tecidular suscetível à disseminação de microrganismos que condiciona o sucesso da microcirurgia endodôntica (Lin, L. *et al.*, 2010).

A remoção da lesão apical e consequente processo de reparação/regeneração, exigem uma reorganização tecidular, exigente em termos da biodinâmica celular com vista a cumprir critérios de cura (Kvist, T. *et al.*, 2012).

Lesões apicais caracterizadas pela perda completa de osso marginal, associadas a dentes com bolsas periodontais, representam um desafio em termos de recuperação. No entanto, a compreensão dos mecanismos biológicos associados à cura destes processos patológicos, tem cada vez mais enfoque, sobretudo ao nível da terapia reconstrutiva e regenerativa, tendo como base a utilização de concentrados plaquetários (Kumar, S. *et al.*, 2015).

1.1. Processo de reparação e regeneração tecidular

O sucesso da terapia endodôntica depende da completa reparação e regeneração dos tecidos periapicais. Na maioria dos casos, dentes com lesões apicais associadas, evoluem para cura e remissão das respetivas lesões mediante tratamento endodôntico convencional (Shubhashini, N. *et al.*, 2013). No entanto, em casos de lesões de maiores dimensões e persistência de sintomas cardinais de infeção, é imperiosa a decisão de submeter o paciente a microcirurgia endodôntica, no sentido de eliminar os tecidos patológicos bem como a fonte de irritação periradicular com vista à promoção da potencial recuperação e cura (Taschieri, S. *et al.*, 2016).

O processo de reparação tecidular é mediado por uma grande variedade de eventos intra e extra-celulares que são regulados por proteínas de sinalização e por

um processo complexo que depende de uma sequência de eventos que incluem: fixação, migração e proliferação celular (Fujioka-Kobayashi, M. *et al.*, 2012). Tem, portanto, sido dividido em três estádios: fase inflamatória (vascular e celular), fase fibroblástica e fase de remodelação (Klement, GL. *et al.*, 2013). A fase vascular é caracterizada pelo desenvolvimento da hemóstase (constituição de uma matriz de fibrina cicatricial) e pelo aporte de leucócitos ao local da lesão. A fase celular é caracterizada pela ativação do sistema complemento, em que, neutrófilos, monócitos/macrófagos, linfócitos, plasmócitos e plaquetas estão ativos nos locais de dano tecidual, segregando citocinas e FC. Estes mediadores químicos, participam no recrutamento fibroblástico, induzem a proliferação e estimulam a atividade biossintética, levando à secreção de proteases, bem como à síntese de macromoléculas matriciais. A fase fibroblástica é aquela em que se forma uma rede de fibrina, sobre a qual os fibroblastos iniciam a precipitação de substância fundamental e tropocolagénio. Os fibroblastos por sua vez têm a importante tarefa de estimular células mesenquimais indiferenciadas na produção de tropocolagénio (percursor de colagénio) e segregam fibronectina, aumentando fortemente a resistência da ferida. A fase de remodelação dura toda a vida e baseia-se na remodelação de colagénio (Ehrenfest, D. *et al.*, 2006).

Relativamente ao processo de regeneração óssea, é fundamental a ação de osteoblastos, que sintetizam os componentes orgânicos da matriz óssea e controlam a mineralização dessa matriz. A diferenciação e o desenvolvimento de osteoblastos a partir de células mesenquimais está dependente da libertação de FC, os quais, são responsáveis pela regulação de processos celulares envolvidos na reparação de tecidos, através da ligação a recetores específicos presentes na superfície celular (Lindhe, 2005).

Portanto, os FC obtidos das plaquetas além da sua ação nos tecidos, interagem com outros FC, de modo a ativar a expressão genética e a produção de proteínas, sendo favorável para a atividade celular (Sunitha, RV. *et al.*, 2008).

1.2. Utilização de concentrados plaquetários: potencial terapêutico no processo de cicatrização

A microcirurgia endodôntica tem várias limitações: é um procedimento invasivo, pode não impedir a reincidência da lesão apical, tem grande impacto

psicológico para o paciente e requer competências técnicas, bem como experiência do médico dentista, em nível de perito (Neaverth, J. *et al.*, 2013).

Fundamentadas nestas limitações, novas abordagens terapêuticas têm vindo a aparecer na literatura, e consequentemente na prática clínica de médicos dentistas, em concreto, a utilização de fibrina rica em plaquetas e leucócitos (L-PRF) isoladas ou combinadas com outros biomateriais, tendo como fim a facilitação do processo de regeneração e reparação de tecidos lesados, após microcirurgia apical (Uppada, U. *et al.*, 2017).

A literatura científica tem vindo a promover a utilização de fatores de crescimento (FC) presentes nas plaquetas sanguíneas desde meados do século 20. A fundamentação para o seu uso baseia-se na possibilidade de que as plaquetas sanguíneas possam ser determinantes para modular a regeneração e reparação de tecidos (Shubhashini, N. *et al.*, 2013).

A ativação de plaquetas é fundamental para a hemóstase devido à sua agregação ao tecido danificado e às interações com os mecanismos de coagulação. Os FC libertados dos grânulos alfa plaquetários, são polipéptidos específicos presentes no plasma, que regulam a proliferação e diferenciação celular, promovendo a regeneração dos tecidos. As plaquetas libertam, pelo menos, sete FC que atuam na fase inicial da cicatrização: Fator de Crescimento Transformador β (TGF - β), Fator de Crescimento Fibroblástico básico (bFGF), Fator de Crescimento Derivado de Plaquetas (PDGF), Fator de Crescimento Epitelial (EGF), Fator de Crescimento Semelhante a Insulina (IGF) e Fator de Crescimento Endotelial Vascular (VEGF) (Ehrenfest, D. *et al.*, 2012).

1.2.1 Concentrados plaquetários: duas gerações evolutivas

Os concentrados plaquetários, começaram a ser utilizados como terapêutica de transfusão para tratamento e prevenção de hemorragia severa em casos de trombocitopenia associada a leucemias, aplasias medulares, ou a cirurgias de longa duração (Ehrenfest, D. *et al.*, 2012). No âmbito da medicina dentária, o potencial regenerativo das plaquetas, foi primordialmente referido por Ross *et al.*, ao descrever o potencial dos FC existentes nas plaquetas, que, adequadamente isoladas do sangue periférico, são uma fonte autóloga de FC (Shubhashini, S. *et al.*, 2013).

O PRP – plasma rico em plaquetas – pertence, em termos evolutivos, à primeira geração de concentrados plaquetários.

Foi, primeiramente descrito por Withman, *et al.* (Ehrenfest, D. *et al.*, 2012), e consiste numa modificação das colas de fibrina (resultantes da polimerização do fibrinogénio com adição de trombina e cálcio, que caíram em desuso, entre outras causas, devido ao risco de transmissão infecciosa). Resulta da centrifugação de sangue do próprio paciente (Martinez, CE. *et al.*, 2015). É usado sob a forma de gel, que é conseguido pela mistura de PRP (proveniente da centrifugação de sangue autólogo) com trombina e cloreto de cálcio (Ehrenfest, D. *et al.*, 2012).

Existem vários protocolos de obtenção do PRP, sendo comum a todos eles, a necessidade de recolha de amostra de sangue periférico em tubo com anticoagulante e posterior centrifugação (Ehrenfest, D. *et al.*, 2009). Também é comum, o recurso a dupla centrifugação com o intuito de aumentar a concentração de plaquetas recolhidas: a primeira centrifugação, *soft spin*, que leva à separação do sangue em três camadas distintas e a *hard spin*, onde é suposto ocorrer uma centrifugação mais longa e rápida (Geeta, I. *et al.*, 2013).

O PRP, ainda que evidencie benefícios biológicos apresenta no entanto algumas limitações, bem como potenciais riscos: a trombina utilizada (geralmente de origem bovina) poderá estar associada ao desenvolvimento de anticorpos, anti trombina e anti fatores V e XI, podendo resultar em riscos de coagulopatias. Existe, ainda, a possibilidade de reação de corpo estranho, devido à presença de fator V, na trombina utilizada (Inamdar, SP. *et al.*, 2013).

Na tentativa de colmatar as limitações associadas ao PRP, surge um novo conceito associado à utilização de concentrados plaquetários: o L-PRF/ PRF, definido como um biomaterial de fibrina rica em plaquetas e leucócitos, correspondente à segunda geração de concentrados plaquetários (Choukron, J. *et al.*, 2006).

1.2.2. L-PRF: Fibrina Rica em Plaquetas e Leucócitos

O L-PRF, foi desenvolvido por Choukron, *et al.*, e resulta do aperfeiçoamento técnico no âmbito da utilização de biomateriais plaquetários com protocolos de produção simplificados e otimizados (Choukron, J. *et al.*, 2006). De acordo com Ehrenfest *et al.*, esta técnica é a que detém o protocolo mais simplificado e menos dispendioso até agora descrito. A preparação do L-PRF requer uma centrifugadora

adequada, um kit de colheita de sangue periférico (que inclui tubos de colheita sem anticoagulante) e uma *box* que se destina à produção de membranas com espessura padronizada. Após centrifugação, devido à ausência de anticoagulante, ocorre ativação da maioria das plaquetas da amostra de sangue, iniciando-se a cascata da coagulação. Inicialmente, o fibrinogénio concentra-se no topo do tubo e a trombina circulante transforma-se numa rede de fibrina. O resultado, é um coágulo de L-PRF obtido no meio do tubo entre os glóbulos vermelhos (parte inferior) e o soro (topo), resultante de uma polimerização natural e progressiva que ocorre durante a centrifugação (Ehrenest, D. *et al.*, 2009).

A maioria dos FC e citocinas leucocitárias encontram-se presas na matriz de fibrina do L-PRF (estando ausentes no plasma acelular ou no exsudado), mesmo após a compressão desta matriz e a sua conversão em membrana. Isto implica uma íntima incorporação destas moléculas na arquitetura dos polímeros de fibrina, e exclui a possibilidade destas moléculas se perderem juntamente com exsudado (Choukron, J. *et al.*, 2006). Desta forma, ao invés de outros concentrados plaquetários utilizados, trata-se de uma técnica simplificada que pretende mimetizar o processo natural de coagulação, em que se produz uma membrana bioativa, biocompatível, simples e económica que funciona como uma rede de fibrina que leva, tanto à migração como à proliferação celulares, de forma mais eficiente (Saravanakumar, B. *et al.*, 2014). Estruturalmente, a produção do L-PRF permite a obtenção de uma matriz firme de fibrina, com uma arquitetura tridimensional complexa, onde estão afixados grandes concentrações de plaquetas e leucócitos do sangue periférico colhido (Kumar, A. *et al.*, 2015).

Embora os FC e plaquetas desempenhem um papel fundamental no fundamento biológico do L-PRF, a arquitetura tridimensional da fibrina e o seu conteúdo em leucócitos são dois parâmetros fundamentais, raramente avaliados. A maioria dos estudos só destacam as concentrações de plaquetas e FC, contudo, a arquitetura da fibrina, influencia diretamente a biologia de todos os biomateriais à base de fibrina (Dohan, D. *et al.*, 2012).

Desta forma, a influência dos leucócitos no mecanismo de ação do L-PRF ainda não foi totalmente estudada. Sabe-se, no entanto, que têm grande impacto sobre a biologia e as propriedades dos concentrados plaquetários, não só devido ao seu potencial imunitário e antibacteriano, mas também devido ao papel crucial no processo de cicatrização. São uma fonte de FC, mas sobretudo, de proteínas antibacterianas, tais

como: lisozimas, collagenases, gelatinases, lactoferrina, fosfolipase A2 e proteínas de membrana (Bielecki, T. *et al.*, 2012).

Adicionalmente, num estudo elaborado por Dohan, E. *et al.* (2010), com base em microscopia eletrônica, confirmou-se que mais de metade dos leucócitos ficaram retidos na membrana de PRF, não tendo sido danificados durante o protocolo de preparação. Este resultado tem forte relevância clínica, pois, a quantidade considerável de leucócitos retido no interior de cada membrana, torna ainda mais eficiente a regulação de reações inflamatórias e, conseqüentemente, o fundamento clínico para a utilização do L-PRF.

O sucesso desta técnica é fortemente influenciado pela prática do operador. Depende da rapidez da colheita de sangue e transferência para a centrífugadora. Sem anticoagulante, a amostra de sangue começa a coagular imediatamente após contactar com o tubo de colheita. A rapidez do processo é o único meio de obter membranas de qualidade, uma vez que, se o processo demorar, vão ocorrer erros e a fibrina irá polimerizar em direções difusas no tubo, e apenas um pequeno coágulo sem consistência, será obtido (Ehrenest, D. *et al.*, 2009; Quirynen, M. *et al.*, 2018).

De acordo com Choukron, *et al.* (2006), as aplicações clínicas do L-PRF, são fundamentadas em quatro eventos pilar da cicatrização, otimizados pela utilização destas membranas: angiogénese, controlo imunitário, recrutamento de células precursoras circundantes e proteção exercida pelo invólucro epitelial. A angiogénese, consiste na formação de novos vasos sanguíneos, a partir de outros pré-existentes. Para isso, é necessária a presença de uma matriz extracelular que permita a migração, divisão e alteração fenotípica das células endoteliais. Foi demonstrado que a matriz de fibrina leva diretamente à angiogénese (Ehrenfest *et al.*, 2006).

Relativamente aos mecanismos biológicos inerentes às plaquetas presentes neste biomaterial, a sua ativação é fundamental para iniciar a hemóstase. Contudo, a sua desgranulação implica também a libertação de citocinas capazes de estimular a migração celular e a proliferação na matriz de fibrina (Dohan, DM. *et al.*, 2006). Ainda de acordo com o mesmo autor, a propriedade de angiogénese deste substrato é explicada pela estrutura tridimensional e pela ação simultânea das citocinas que se encontram retidas na estrutura da matriz. A polimerização lenta e progressiva do L-PRF leva ao aumento da incorporação destes mediadores químicos nas malhas de fibrina. Esta configuração implica um aumento de tempo de vida destes mediadores, pois, irão ser libertados e usados não apenas no momento da remodelação da matriz inicial cicatricial,

mas também, assegurando-se um efeito a longo prazo, durante aproximadamente 7 dias (Ehrenfest *et al.*, 2006).

Do ponto de vista imunitário, a matriz de fibrina contém diversas populações do sistema imunológico, bem como todos os elementos celulares e moleculares que permitem uma cicatrização eficaz. Destaca-se, também, na membrana de L-PRF um aumento das secreções das citocinas leucocitárias IL-1B, IL-6 e TNF- α . Isto evidencia, que o processo de ativação do sangue no L-PRF (polimerização lenta), pode induzir e aumentar a desgranulação leucocitária. Assim sendo, o L-PRF apresenta propriedades quimiotáticas e a sua eficácia em prevenir e fazer face a infeções é bastante significativo (Ehrenfest *et al.*, 2006).

Embora plaquetas, citocinas e leucócitos tenham um papel importante na biologia deste biomaterial, a matriz de fibrina, ou melhor, a sua arquitetura tridimensional (*scaffold*), ao suportar estes bioelementos, constitui o elemento determinante e maioritariamente responsável pelo verdadeiro poder terapêutico do L-PRF. A sinergia entre estes mediadores celulares e a matriz de fibrina que os suporta, tem mais importância do que qualquer outro parâmetro (Choukron, J. *et al.*, 2006).

O L-PRF, pode ser utilizado de forma isolada ou em conjunto com material de enxerto ósseo (osso biológico ou sintético). Nestes casos, o coágulo de fibrina funciona como uma conexão entre os diferentes elementos do enxerto; ao tratar-se de uma matriz natural, favorece a neo-angiogénese, a capacidade de recrutar células precursoras e a migração de células osteoprodutoras para o enxerto. Neste âmbito, a utilização de L-PRF, favorece o processo regenerativo (Correia, F. *et al.*, 2012).

Quanto às aplicações clínicas, o L-PRF apresenta várias possibilidades de intervenção ao nível da Medicina Dentária, desde a periodontologia, cirurgia oral e maxilofacial, implantologia e endodontia.

Khiste, SV. e Tari, RN. (2013), sintetizaram as aplicações clínicas do L-PRF na Medicina Dentária: cirurgia de elevação de seio maxilar (*Sinus Lift*), com enxerto ósseo, proteção e estabilização de materiais de enxerto, em cirurgias de aumentos ósseos verticais, aplicação em alvéolos após extração, tratamento de recessões gengivais, regeneração óssea nos defeitos intra-ósseos periodontais, tratamento de lesões de furca, colocação de implantes /tratamento cirúrgico de periimplantites, endodontia regenerativa, tratamento de lesões de origem endodôntica e/ou periodontal, preenchimento de cavidades quísticas.

1.2.3. Protocolos A-PRF e i-PRF – Otimização do L-PRF

É cientificamente evidente que o L-PRF constitui uma fonte de FC totalmente favorável à cicatrização de tecidos moles (Ehrenfest *et al.*, 2006). No sentido de otimizar a concentração de células plaquetárias, bem como o comportamento de monócitos/macrófagos, surgiu em 2014 um novo protocolo de L-PRF, denominado A-PRF (*Advanced* – PRF), em que se diminuem as forças centrífugas e se aumentam o tempo global de *spin* – 1500 rpm, durante 14 minutos (Ghanaati, S. *et al.*, 2014). De acordo com Masuki, H. *et al.*, (2016), não se sabe completamente como é que a libertação de FC ocorre a partir do A-PRF ao longo do tempo, pelo que se infere que ao produzir uma diferença nas características mecânicas na membrana, se produz uma diferença no concentrado plaquetário. No entanto, alguns estudos demonstraram que a formulação de A-PRF liberta quantidades significativamente maiores de FC quando comparada com o L-PRF, produzido através do protocolo tradicional (Kobayashi, E. *et al.*, 2016).

Por outro lado, no sentido de se obter uma formulação líquida de L-PRF, isenta de membrana de fibrina, que oferece ao médico dentista a possibilidade de obter uma formulação injetável, um novo protocolo foi introduzido denominado i-PRF (*injectable* PRF). É obtido através de velocidades de rotação mais lentas e tempos de *spin* diminuídos, relativamente ao A-PRF, nomeadamente 700 rpm durante 3 minutos (Miron, R. *et al.*, 2017). Os benefícios da formulação líquida prendem-se com a facilidade de utilização combinada com outros biomateriais (Choukron, J. *et al.*, 2017). Além disso, velocidades de centrifugação mais lentas e mais curtas, otimizam a presença de células regenerativas e a concentração de FC, quando comparado com o protocolo tradicional de L-PRF (Ghanaati, S. *et al.*, 2014). Ainda, segundo Miron, R. *et al.*, 2017, mesmo após 10 dias, quantidades adicionais de FC são libertadas através da formulação de i – PRF.

1.3. Procedimentos de Endodontia Regenerativa: L-PRF

Os procedimentos de endodontia regenerativa, associados à microcirurgia endodôntica, representam uma alternativa terapêutica em pacientes com formação incompleta da raiz e lesões apicais associadas, de elevada dimensão (Pinto, N. *et al.*, 2017). O L-PRF pode ser usado como material de regeneração e revitalização pulpar em dentes imaturos com polpas necróticas, uma vez que é rico em FC, estimula a

proliferação e diferenciação celular e atua como matriz estrutural que guia a formação de tecido. Também, em procedimentos de apexificação, existem casos, onde a combinação de L-PRF, como matriz e Agregado Trióxido Mineral (MTA), é uma alternativa altamente eficaz na criação de barreiras artificiais apicais, e indução de cicatrização mais rápida de lesões apicais de grandes dimensões (Shivashankar, VY. *et al.*, 2012).

A revascularização pulpar pode ser considerada uma opção terapêutica mais favorável relativamente à tradicional apexificação (Keswani, D. *et al.*, 2013). A fundamentação deste fato, assenta nas seguintes características associadas à endodontia regenerativa: utilização de células precursoras, que se podem diferenciar e garantir a continuação do desenvolvimento radicular; garantia de FC e *scaffolds* que induzem e garantem a proliferação e diferenciação celulares (Bakhtiar, H. *et al.*, 2016).

Assim, de acordo com Pinto, N. *et al.* (2017), o L-PRF tem elevado potencial na revascularização pulpar uma vez que é rico em FC, aumenta a proliferação e diferenciação celulares, estimula a angiogénese, atua como matriz para as células em crescimento, medeia as reações inflamatórias e constitui uma matriz para a fixação do MTA.

2. Materiais e Métodos

A pesquisa bibliográfica foi realizada na base de dados Medline (PubMed) e foi baseada em artigos com datas de publicação desde Julho de 2010, até Abril de 2018. Utilizaram-se para o efeito as seguintes palavras-chave: Fibrina Rica em Plaquetas e Leucócitos, Concentrados Plaquetários, Cirurgia Endodôntica, Microcirurgia Endodôntica, Cirurgia Apical, Lesão Periapical, Quisto Radicular, Cicatrização e Regeneração Tecidual. A pesquisa foi filtrada pelos formatos: Meta-Análises, Revisões Sistemáticas, Ensaio Clínicos Randomizados, e Relatos de Casos.

Os critérios de inclusão consistiram em artigos publicados nos últimos 18 anos e disponíveis em inglês. Os artigos foram selecionados individualmente pela autora, com base na leitura de títulos e respetivos resumos. O conteúdo total dos artigos considerados extremamente relevantes, ou cuja informação fosse essencial para a elaboração da presente descrição de casos, foi obtido, através da base de dados utilizada, ou através de bases de dados disponíveis na biblioteca da FMDUL. Outros artigos foram também incluídos depois de analisadas as listas de referências bibliográficas dos

artigos anteriormente obtidos e ainda, artigos considerados pertinentes pelo orientador do presente trabalho de revisão.

Desta pesquisa bibliográfica, foram obtidos 1328 artigos, dos quais 47 foram selecionados para inclusão nesta descrição de casos, e outros 33 adicionais foram obtidos a partir das referências bibliográficas de outros artigos, ou sugeridos pelo Professor orientador por demonstrarem informação relevante sobre a temática em estudo, totalizando 80 artigos.

3. Descrição de Casos Clínicos

A utilização do L-PRF na microcirurgia endodôntica tem assumido crescente impacto na prática clínica de Endodontistas, devido ao seu potencial terapêutico no processo de regeneração e reparação tecidual. É, portanto, um recurso terapêutico em situações clínicas particulares, cujo processo de cicatrização está dificultado/comprometido e potencialmente influenciador dos critérios de sucesso da microcirurgia endodôntica.

Os casos clínicos que, de seguida, vão ser descritos integraram um plano de tratamento com a necessidade de efetuar microcirurgia endodôntica, bem como, a utilização de Fibrina Rica em Plaquetas e Leucócitos. Estão documentados em anexo, e a ordem de descrição dos mesmos, segue a cronologia do caso mais antigo para o mais recente. Como critérios de inclusão e seleção dos casos, enumeram-se os seguintes: pacientes sistemicamente saudáveis, presença de lesão apical associada a um ou mais dentes, presença ou ausência de tratamento endodôntico convencional, indicação terapêutica para efetuar microcirurgia endodôntica, controlo do *outcome* cirúrgico, mínimo de 2 meses (estabilidade epitelial e óssea).

O protocolo de preparação do L-PRF foi comum a todos os casos clínicos, tendo respeitado normas e procedimentos específicos.

Protocolo de Preparação do L-PRF

O protocolo adotado para a preparação do L-PRF, é consistente com o protocolo defendido por Choukron et al., que é atualmente considerado como a forma mais simples e menos dispendiosa de obtenção de concentrados de plaquetas (Ehrenfest, *et al.*, 2006). Basicamente, este material é obtido por um processo de centrifugação de sangue, após colheita de sangue periférico do paciente, antes do procedimento cirúrgico.

É uma técnica isenta de anticoagulantes ou ativadores de coagulação. A preparação do L-PRF requer uma centrifugadora adequada, um kit de colheita de sangue (tubos de colheita, *butterfly* de calibre 24) e uma PRF *box* que permite a formação de membranas padronizadas e a recolha de exsudado em meio estéril.

Neste sentido, seguem-se os seguintes passos: recolha de sangue periférico do paciente para tubos de colheita de 9 ml (o número de tubos é definido consoante o tamanho da lesão e retalho), colocação imediata na centrifugadora a 2700 rpm, durante 12 minutos. Se o paciente é medicado com anticoagulantes, aumenta-se o tempo de rotação para 14 minutos. Após centrifugação, a ausência de anticoagulantes implica a ativação da maioria das plaquetas da amostra de sangue, em contato com as paredes do tubo, desencadeando a cascata da coagulação. Inicialmente, o fibrinogénio é concentrado no topo do tubo, até que a trombina circulante a transforme numa rede de fibrina. O resultado, é o coágulo de L-PRF obtido no meio (correspondendo à zona de *buffy coat*, onde a concentração de plaquetas é maximizada), uma zona superior onde se encontra plasma pobre em plaquetas (PPP) e no fundo do tubo, concentra-se a camada de glóbulos vermelhos (Dohan, D. *et al.*, 2008). Uma imagem explicativa, encontra-se na figura 1a.

O sucesso desta técnica depende inteiramente da rapidez de colheita e transferência desta para a centrifugadora, isto porque, sem anticoagulante, a amostra de sangue começa a coagular imediatamente após o contato com as paredes do tubo de colheita, pelo que a rapidez do processo é o único meio de obter um L-PRF utilizável, pois caso contrário ocorrerão erros e a fibrina irá polimerizar em direções difusas, pelo que será produzido um coágulo de fibrina de pequenas dimensões e sem consistência (Ehrenfest, *et al.*, 2006).

Posteriormente, remove-se a camada superior do tubo de colheita (PPP) e com o auxílio de uma pinça, coleta-se a fração intermediária (coágulo de fibrina) 2mm abaixo da divisão entre esta camada e a camada de eritrócitos, sendo esta última, descartada com o auxílio de um raspador. O coágulo de fibrina é colocado na PRF *box*, esterilizada e pode ser usado na forma de coágulo ou como membrana após ser comprimido (Figura 1b). Esta compressão é realizada na PRF *box*, em que se coloca uma capa metálica por cima da grelha onde repousam os coágulos de fibrina, durante um minuto, para que adquira a espessura padronizada e liberte lentamente o exsudado (Toffler, *et al.*, 2010). A PRF *box* foi concebida para produzir membranas de espessuras padronizadas, que permanecem hidratadas durante muitas horas. Este exsudado que se acumula no fundo

da caixa, é rico em proteínas como fibronectina e vitronectina (importantes nos mecanismos de adesão e migração celular) e poderá ser usado para hidratar materiais de enxerto, lavar as locas cirúrgicas ou ainda, armazenar enxertos autólogos (Ehrenfest, *et al.*, 2006).

A maioria de FC e citocinas não é encontrada no PPP ou no exsudado, permanecendo presos no coágulo de L-PRF, mesmo após ser convertido em membrana, o que implica uma íntima incorporação destas moléculas na arquitetura de polímeros de fibrina, excluindo a possibilidade de se perderem juntamente com o exsudado (Choukron, *et al.*, 2006).

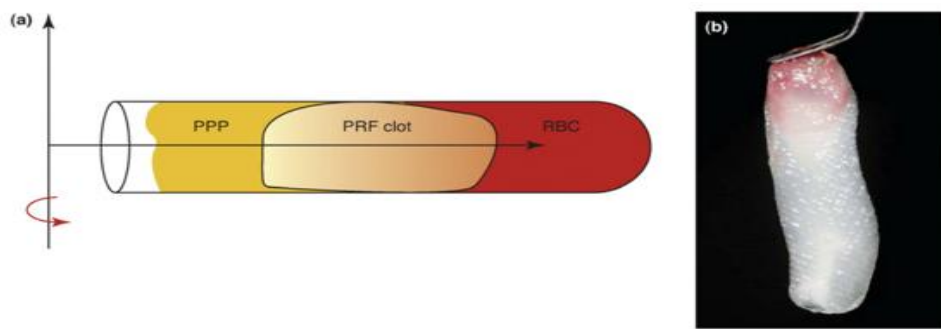


Fig. 1 (a) – Ilustração dos diferentes componentes celulares sanguíneos, após centrifugação.
(b) – Membrana de Fibrina, após compressão padronizada na PRF box.

Fonte: <https://www.google.pt/search?q=L-PrF&source=lnms&tbm=isch&sa=X&ved>

3.1.Caso Clínico 1

Paciente do género masculino, 43 anos de idade. Encaminhado do seu médico dentista generalista para Endodontista com o intuito de avaliação radiográfica de lesão apical associada aos dentes 11 e 12. Exame extra-oral sem alterações significativas. Relativamente aos antecedentes relevantes sobre a etiologia dos tratamentos efetuados nos dentes 11 e 12, o paciente refere que há cerca de 15 anos atrás, sofreu fratura de ambos os incisivos na sequência de uma pancada. Tendo em conta o fato de se tratar de uma fratura horizontal com envolvimento pulpar, foi efetuado tratamento endodôntico convencional com reabilitação prostodôntica de 2 coroas em cerâmica. Esteve assintomático até há cerca de 3 anos, altura em que iniciou queixas de sensibilidade diferente (SIC), sensação de pressão (SIC) e sensação de mobilidade dentro do dente

(SIC), tendo recorrido ao seu médico dentista. Após radiografia periapical verificou-se a presença de lesão apical, com aproximadamente 6 mm, associada aos ápex dos dentes em questão. O Endodontista, na primeira consulta, realizou novo exame dentário, tendo verificado que ambos os dentes com as respectivas reabilitações se encontravam periodontalmente saudáveis, sem bolsas, com boa adaptação marginal e contactos oclusais fisiológicos. Informou o paciente da opção terapêutica mais indicada e requisitou a realização do CBCT.

Na consulta seguinte, e já com as imagens do CBCT, confirmou-se a dimensão aproximada da lesão apical, conseguiu-se observar na imagem tridimensional, a destruição da quase totalidade da tábua vestibular (cerca de $\frac{3}{4}$), observando-se apenas uma fina camada óssea a revestir a raiz, por vestibular. Observou-se, também, a manutenção da integridade óssea em palatino.

Foram, então, colhidos 18ml de sangue periférico em 3 tubos isentos de anticoagulante e colocados na centrífuga. Produziram-se 3 membranas de fibrina de acordo com o protocolo descrito. Posteriormente, foi administrada anestesia infiltrativa, efetuou-se incisão sulcular, com preservação da papila e descarga ao nível do dente 13, descolamento e obteve-se um retalho de espessura total em envelope. Tal como havia sido visível na imagem do CBCT, apenas uma fina camada de osso vestibular estava presente. Começou-se por destacar a lesão em toda a periferia, com o auxílio de uma cureta, tendo-se conseguido remover toda a lesão em bloco. Insistiu-se um pouco mais com a curetagem óssea, para remoção de todos os fragmentos inflamatórios presentes. A loca óssea ficou com um diâmetro de aproximadamente 6mm e 3mm de altura. Posteriormente, realizou-se apicectomia de aproximadamente 2mm, e obturação retrógrada com o auxílio de instrumentos ultrassónicos e MTA.

Foram colocadas duas membranas de fibrina dentro da loca óssea, sendo que a terceira membrana, foi colocada em toda a extensão do retalho. Os tecidos foram reposicionados e efetuaram-se 8 pontos simples, com sutura em nylon (6/0). As suturas foram removidas após 6 dias. O paciente descreveu um pós-operatório muito bem tolerado, com níveis baixos de dor e ausência de edema. Não fez a terapêutica anti-inflamatória e analgésica prescrita.

Ao nível da cicatrização dos tecidos moles, o Endodontista referiu que verificou uma ferida cirúrgica com aspeto epitelizado, ausência de inflamação ou hemorragia ao toque, considerando que a estabilidade epitelial foi maximizada, de tal forma que na consulta de remoção de suturas já era muito discreta a trajetória da incisão. Após 6

meses, a radiografia periapical mostrou trabeculação óssea no local da anterior loca, aos 12 meses, verificou-se o completo preenchimento ósseo, mantendo-se esta imagem radiográfica no controle efetuado após 2 anos.

3.2. Caso Clínico 2

Paciente do gênero masculino, 43 anos de idade, sistemicamente saudável, dirigiu-se à consulta do seu médico dentista generalista há cerca de 3 anos, por sintomatologia dolorosa e sensação de mobilidade dentária, associada ao dente 22. Devido à presença imagem radiolúcida, visualizável na ortopantomografia, compatível com a existência de lesão apical, foi encaminhado para o Endodontista para avaliação de lesão apical associada aos dentes 21 e 22, bem como para avaliação da restaurabilidade de dente 22.

Numa primeira consulta, foi realizado exame objetivo extra-oral, sem alterações significativas a reportar, e exame intra-oral, com o auxílio de ortopantomografia previamente realizada. O índice percentual de placa, era elevado neste paciente, pelo que se observava acumulação de placa bacteriana generalizada a todas as estruturas dentárias. Relativamente ao dente 21 observou-se a presença de coroa cerâmica com retenção intracanal, bem como tratamento endodôntico prévio à restauração fixa. Foram efetuados testes de sensibilidade no dente 22, que respondeu positivamente ao teste térmico ao frio. Adicionalmente, apresentava bolsas periodontais por vestibular (445) e por palatino (554) e mobilidade de grau I. O dente foi considerado restaurável e nessa mesma consulta, foi efetuada destartarização total bimaxilar, bem como alisamento radicular das localizações com bolsas periodontais. Informou-se o paciente, da eventual necessidade de realizar microcirurgia endodôntica, da importância da correta higiene oral, requisitou-se CBCT e marcou-se nova consulta na semana seguinte.

Na semana seguinte, foi iniciado o tratamento endodôntico do dente 22, ficando após a conclusão do tratamento, dois meses, na expectativa de reversão da lesão. Após este período, não tendo ocorrido a remissão da mesma, foi decidido realizar a microcirurgia endodôntica. A análise das imagens do CBCT, permitiram visualizar o envolvimento bi-cortical ósseo, vestibular e palatino, com extensão ao osso nasopalatino, relativamente ao dente 22. A dimensão da lesão era de cerca de 10 mm e a sua forma aproximadamente circular.

Na consulta da microcirurgia endodôntica, começou por administrar-se metade de um comprimido de midazolan (5mg) ao paciente, e procedeu-se à colheita de 4 tubos de 9ml de sangue periférico. Após anestesiá-lo, iniciou-se a incisão de *Velvart*, desde o dente 21 ao dente 23, com uma descarga ao nível do dente 23, obtendo-se um retalho de espessura total em envelope. A lesão foi removida em bloco, com o auxílio de curetas de diferentes tamanhos. Uma vez que pequenos fragmentos de lesão ainda estavam aderidos ao osso, foi ainda utilizada uma broca esférica, em contra-ângulo, com bastante irrigação para se concluir a descontaminação óssea. Foi então, colocado Telfa e feita pequena osteotomia na tábua vestibular do dente 21. Seguidamente, apicectomia de cerca de 3mm em ambos os dentes e obturação retrógrada com MTA

Na zona da loca óssea, foi colocado bioosso (BioOss®), e membrana BioGuide® e após remoção do Telfa, foram colocadas as membranas de fibrina, de forma a estabilizar o biomaterial ósseo. A quarta membrana de fibrina, foi colocada em toda a extensão do retalho. Após reposição do tecido, foram dados cinco pontos simples na zona de incisão e outros dois na descarga.

Após 5 dias, foram removidas apenas as suturas verticais, por razões académicas associadas ao desenho de pontos adotado. Uma semana depois, foram removidas as restantes suturas, havendo sinas evidentes de cicatrização dos tecidos moles. Um controlo foi feito após 6 meses, identificando-se trabeculação óssea na zona da antiga perda de tecidos duros, e após 12 meses, a radiografia periapical demonstrou formação óssea evidente e nessa mesma data, ausência de reincidência da lesão apical.

3.3. Caso Clínico 3

Paciente do género masculino, 56 anos de idade, vem à consulta de Endodontista, encaminhado pelo seu médico dentista generalista para avaliação de lesão apical ao nível dos dentes 41 e 31, com presença de trajeto fistuloso ao nível do espaço submandibular com comunicação extra-oral ao nível do queixo. Paciente sistemicamente saudável, dirigiu-se à consulta do seu médico generalista, há cerca de 2 anos, por queixas de sensação de mobilidade, pressão e dor. Fez tentativas farmacológicas de alívio da sintomatologia dolorosa (paracetamol e ibuprofeno), tendo algum efeito. Refere alívio da dor e da sensação de pressão, durante cerca de um mês, e após este período diz ter ficado “com ferida no queixo” (SIC), motivo principal para a visita ao seu médico dentista.

Na primeira consulta com o Endodontista foi feita radiografia periapical que revelou a presença de lesão apical com envolvimento das raízes dos dentes 41 e 31. Nesta primeira consulta, o Endodontista fez aberturas coronárias em ambos os dentes, e procedeu à instrumentação e abundante irrigação com hipoclorito de sódio. Repetiu o procedimento de irrigação canalar durante 5 consultas, na tentativa de secar os canais para ser possível realizar a obturação, no entanto, não foi possível. Como tal, medicou o paciente com Amoxicilina (875mg) e Ácido clauvulânico (125mg), de 12/12 h, durante 7 dias. Após finalizar a terapêutica, o Endodontista já obteve sucesso ao secar ambos os canais, pelo que conclui o tratamento endodôntico. Pediu a realização de CBCT e informou o paciente da necessidade de realizar a microcirurgia endodôntica.

Na consulta da cirurgia, aproximadamente um mês depois, foi analisado o CBCT, que revelou informações adicionais sobre as características da lesão apical, nomeadamente, forma aproximadamente triangular, tamanho de cerca de 5 mm, envolvimento da tábua vestibular com preservação da palatina. Deu-se então início ao procedimento cirúrgico: feita colheita de 18 ml de sangue periférico para tubo de colheita e posterior centrifugação de acordo com o protocolo, tendo-se obtido 2 membranas de L-PRF. Simultaneamente, anestesiou-se o paciente e efetuou-se incisão sulcular com preservação da papila, duas descargas verticais ao nível dos dentes 33 e 43 obtendo-se um retalho retangular de espessura total. Posteriormente com o auxílio de ultrassons e curetas, removeu-se a lesão em bloco, ficando uma loca óssea com dimensões consideráveis. Foi decisão do endodontista efetuar osteotomia no terço apical da tábua vestibular e foi feita apicectomia de cerca de 3mm em ambos os dentes, com posterior obturação retrógrada com MTA.

Seguidamente, colocaram-se ambas as membranas de fibrina na da loca óssea. Reposicionaram-se os tecidos, que foram suturados com 10 pontos simples (2 em cada descarga e outros 6 na zona da incisão), com sutura em nylon. Foi prescrito analgésico e anti-inflamatório. As suturas foram removidas após 5 dias, em que se verificou verdadeira estabilidade epitelial (bordos da ferida unidos, epitelização evidente, ausência de hemorragia, dor ou flutuação). Adicionalmente, o paciente referiu ter tido um pós-operatório sem dor e sem necessidade de recorrer a analgesia.

Foi feito controlo um mês após a cirurgia, em que se verificou total cicatrização da lesão extra-oral, conseqüente do trajeto fistuloso, e também se verificou a presença de discreta trabeculação óssea na zona da loca óssea. Foi feito novo controlo 12 meses

depois, que evidenciou formação óssea e ausência de reincidência da lesão previamente existente.

3.4. Caso Clínico 4

Paciente do gênero masculino, 44 anos de idade, sistemicamente saudável vem encaminhado do seu médico dentista, para Endodontista, há cerca de 2 anos atrás, para avaliação de lesão apical associada aos dentes 12 e 11, identificada em ortopantomografia previamente efetuada.

Do exame intra-oral, juntamente com radiografias periapicais, o Endodontista observou a presença de tratamento endodôntico no dente 12, com encerramento da abertura coronária em compósito. O dente 11, apresentava-se reabilitado proteticamente com uma coroa de Richmound, com sinais de boa adaptação marginal, e o dente 21 comprometido periodontalmente com bolsas de valor 5 em vestibular, vital, com sensibilidade normal ao teste térmico ao frio. Face às reabilitações protéticas existentes, foi planeada a realização de microcirurgia endodôntica para tratamento da lesão apical requisitada a realização de CBCT.

Na consulta seguinte, a imagem do CBCT confirmou a presença da lesão apical com cerca de 8 mm e forma quadrangular, associada ao dente 11. Também se apurou o envolvimento bicortical com destruição da quase totalidade da tábua óssea vestibular, verificando-se o terço cervical. Em palatino, verificou-se pequeno defeito ósseo no terço médio. Relativamente ao dente 12, verificou-se a perda da cortical vestibular, em mesial. Deu-se, então, início à intervenção terapêutica. Para tal, colheram-se 4 tubos de sangue periférico, para posterior confecção de 3 membranas de fibrina e uma membrana com a configuração em bloco. Anestesiou-se o paciente e procedeu-se à incisão sulcular com preservação da papila, com descarga ao nível do dente 13. Assim que se terminou o retalho de espessura total, identificou-se imediatamente a lesão. A sua remoção em bloco, não foi possível, uma vez que a mesma se fragmentou em várias partes, como tal, com o auxílio de curetas e de instrumentos ultrassônicos, removeram-se os vários fragmentos. Posteriormente, procedeu-se à osteotomia no terço médio da tábua vestibular do dente 12, e apicectomia de cerca de 3mm no 12 e de 6mm no 11, com posterior obturação com MTA. Colocou-se, então, a membrana em bloco, de fibrina, no ápex do dente 12, posteriormente colocou-se bioosso (BioOss®) e membrana BioGuide® e sobre o ápex do dente 11, as restantes membranas de fibrina.

Reposicionou-se o tecido gengival e deram-se 8 pontos simples, no total. Medicou-se o paciente com anti-inflamatório e analgésico em SOS.

Ao fim de 5 dias, removeram-se as suturas, verificando-se sinais de estabilidade epitelial e de cicatrização efetiva (união dos bordos da ferida com epitélio rosado, ausência de dor, rubor, flutuação ou hemorragia). Foi feito um controlo ao fim de 6 meses, observando-se discreta recessão gengival (compensada pelo sorriso baixo) e presença de preenchimento ósseo na zona previamente lesionada. Ao fim de 2 anos, o paciente voltou à consulta do Endodontista para tratamento endodôntico convencional no dente 35, pelo que, foi feita radiografia de controlo, aos dentes 11 e 12, que revelou ausência de lesão apical (ou seja, não existiu recidiva), bem como, densa trabeculação óssea.

3.5. Caso Clínico 5

Paciente do género masculino, 46 anos de idade, sistemicamente saudável dirigiu-se à consulta do Endodontista há cerca de um ano atrás, para efetuar retratamento endodôntico com auxílio de microscópio, encaminhado de médico dentista generalista. A sua visita ao seu médico dentista generalista foi feita na sequência de queixas de sintomatologia dolorosa e sensação de pressão ao nível do dente 27, cujo tratamento endodôntico havia sido terminado há cerca de meio ano. Após efetuar radiografia periapical, foi observada a existência de material de obturação em cerca de 2 milímetros além do ápex da raiz palatina, sendo este achado uma potencial causa para a sintomatologia descrita. Como tal, devido à complexidade do caso e pela maior capacidade de trabalho com recurso a microscópio, o paciente foi encaminhado com carta explicativa de toda a história clínica até então, para efetuar retratamento.

Neste sentido, foi efetuado retratamento pelo Endodontista, com recurso a microscópio que, após ter sido concluído, promoveu melhorias significativas em termos de sintomatologia. Inclusivamente, foi feito controlo após um mês, em que a radiografia periapical revelou ausência de imagem radiolúcida ao nível da raiz palatina, sendo sugestiva de regressão da lesão. Passados cerca de 3 meses, o paciente voltou à consulta do Endodontista com queixas de dor e tumefação facial na hemiface esquerda (abscesso apical agudo). Após realização de radiografia periapical, o Endodontista verificou reincidência da lesão apical, mais localizada ao nível da raiz distal. Foi pedida a realização de CBCT, o paciente foi medicado com metronidazol, e após findar a

terapêutica, foi decidida a realização de microcirurgia endodôntica, por se tratar de um caso clínico com recidiva.

A análise do CBCT, confirmou a presença da lesão apical, com dimensão de cerca 4 mm, associada à raiz distal. Também se confirmou o envolvimento do terço apical da tábua óssea vestibular, algum envolvimento da tábua óssea palatina, e ainda, discreta invasão da membrana de Schneider. Deu-se, então, início à microcirurgia endodôntica, com a colheita de 18 ml de sangue periférico, com posterior centrifugação, obtendo-se 2 membranas de fibrina. Anestesiou-se o paciente, e efetuou-se incisão sulcular com envolvimento de papilas, com descarga vertical em distal do dente 27, obtendo-se um retalho triangular de espessura total. Tentou remover-se a lesão em bloco, sendo um procedimento algo complexo, pois estava fortemente aderida ao osso. Após a remoção da mesma, foi verificada a presença de resquícios da lesão previa associada à raiz palatina. Com o auxílio de ultrassons, efetuou-se limpeza de toda a superfície óssea íntima à lesão e para garantir o bom acesso à zona apical, foi feita osteotomia de cerca de 2 mm. Posteriormente, foi feita apicectomia das raízes palatina e distal, de cerca de 4 mm, com posterior obturação retrógrada com MTA. Findados estes processos cirúrgicos, as duas membranas de fibrina foram colocadas na loca óssea. Foi feita reposição dos tecidos moles e encerrou-se a ferida cirúrgica com 5 pontos simples, dois deles na descarga, com sutura em nylon. Foi prescrito anti-inflamatório e analgésico em SOS.

Após 3 dias foram removidas as suturas, e os tecidos moles, evidenciavam verdadeiros sinais de cicatrização. O pós-operatório decorreu com sintomatologia dolorosa e o paciente sentiu necessidade de recorrer a analgesia, tendo sido esta, a única queixa do paciente. Foi feito novo controlo após três semanas, com imagem radiográfica, tendo-se verificado ausência de trabeculação óssea, na zona prévia à lesão. Um novo controlo radiográfico foi feito após sete meses, que evidenciou trabeculação óssea, pouco densa, mas ausência de recidiva da lesão apical.

3.6. Caso Clínico 6

Paciente do género feminino, 34 anos de idade, com história de edema facial, há cerca de 2 anos devido a lesão apical endodôntica associada aos dentes 21 e 22, ambos com tratamentos endodônticos antigos. Nesta altura, foi medicada com amoxicilina e ácido clauvulânico, juntamente com metronizol, tendo conseguido controlar o

respetivo edema facial. Veio encaminhada de médico dentista generalista que, há cerca de 1 ano, iniciou retratamento no dente 22, com várias sessões de medicação intracanal, tendo decidido adiar a obturação até evidências radiográficas de melhorias da lesão apical. Uma vez que a lesão não reverteu, a paciente foi encaminhada para Endodontista para efetuar microcirurgia endodôntica.

Na primeira consulta, há cerca de 6 meses atrás, foi feito exame extra-oral (dentro dos limites do normal), e relativamente ao exame intra-oral a paciente referiu história de edema palatino. O dente 21 apresentava-se reabilitado proteticamente com coroa cerâmica e o dente 22 com restauração em compósito MOD. Ambos os dentes se apresentavam periodontalmente saudáveis. A imagem da radiografia periapical revelou que o dente 21 estava sub obturado (a cerca de 3 mm do ápex).

Na zona do fundo do vestíbulo de ambos os dentes, a paciente referia queixas de desconforto à palpação, bem como desconforto à percussão vertical e horizontal.

Nesta consulta, foram ainda, feitas algumas desmistificações sobre a cirurgia, uma vez que a paciente se encontrava apreensiva relativamente à mesma, e foi requisitado CBCT.

Na consulta seguinte, e após análise do CBCT, foi possível confirmar a elevada dimensão da lesão (cerca de 12mm de diâmetro) com envolvimento dos dentes 21 e 22, bem como a destruição de toda a cortical óssea em vestibular. A tábua óssea palatina apresentava pequeno defeito, isto é, uma pequena depressão óssea na zona íntima à lesão, sem evidenciar uma perda propriamente dita. Procedeu-se, então, à colheita de sangue periférico de 4 tubos de 9ml, bem como à confecção de 4 membranas, de acordo com o protocolo descrito. Seguidamente, anestesiou-se a paciente e procedeu-se à incisão, com desenho *papilla based incision*, iniciando-se no dente 11 e terminado no dente 23 com duas descargas respetivamente, obtendo-se um retalho trapezoidal/retangular. Ao analisar a tábua óssea, confirmou-se a elevada dimensão da lesão e a sua forma esférica. Com o auxílio de curetas e ultrassons tentou remover-se a lesão em bloco, porém, a sua adesão periférica era muito forte, pelo que se necessitou de algum tempo para efetuar a completa remoção da mesma. No dente 22 não foi necessária osteotomia, pela evidente perda de tábua óssea vestibular, porém, no dente 21, foi necessária osteotomia de cerca de 3mm, para se alcançar a zona apical. Foi colocado Telfa e efetuada apicectomia de cerca de 3 mm no dente 21 e de cerca de 4mm no dente 22. Efetuou-se obturação retrógrada com MTA.

Seguidamente, colocaram-se 3 membranas no interior da loca óssea, e a quarta membrana foi acomodada sobre a extensão do retalho, estando centrada na zona da papila interproximal ao dente 11 e 21. Efetuaram-se 2 pontos simples, nos ângulos formados pelas descargas seguidos de 8 pontos transpapilares em laçada. Sutura em nylon, 6/0. A paciente foi medicada com anti-inflamatório e analgésico.

Após 4 dias, foram removidas as suturas, estando a zona de incisão, bem como todo o epitélio envolvente, com sinais evidentes de cicatrização: ausência de hemorragia ao toque, coloração rosa claro e união de bordos da ferida cirúrgica quase impercetível. A paciente reportou dor pós-operatória no dia da cirurgia. Foi feito controlo há cerca de 3 meses, com radiografia periapical que evidenciou densa trabeculação óssea, com ausência de recidiva da lesão apical.

3.7. Caso Clínico 7

Paciente do género feminino, 55 anos de idade, veio ao consultório do Endodontista por queixas de sensação estranha na gengiva (SIC), associada a suspeita de pequena elevação ao nível do ápex do dente 12. O exame extra – oral não revelou alterações significativas, e no exame intra-oral foi possível observar a existência de 4 coroas cerâmicas nos dentes 12, 11,21 e 22, com boa adaptação marginal, alguma hemorragia à sondagem, principalmente ao nível do dente 12 e ausência de bolsas periodontais. Tendo em conta que a paciente não era vista há cerca de 13 anos efetuou-se ortopantomografia, que permitiu visualizar a existência de tratamentos endodônticos nos quatro dentes reabilitados proteticamente, bem como, 2 lesões apicais associadas aos dentes 12 e 22. Neste sentido foi requisitada a realização de CBCT e planeada a realização de microcirurgia endodôntica.

As imagens do CBCT permitiram identificar ao nível do dente 12 uma lesão de cerca de 10 mm, com total perda de osso marginal vestibular, e também, um pequeno defeito ósseo em palatino. Já ao nível do dente 22, foi observada uma discreta radiolucidez íntima ao ápex (cerca de 2mm), com ligeiro espessamento do ligamento periodontal, sem envolvimento das tábuas ósseas. Optou-se por efetuar o tratamento cirúrgico de ambas as lesões numa sessão. Neste sentido, efetuou-se venopunção para colheita de 3 tubos de 9ml para obtenção de membranas de fibrina, de acordo com o protocolo e, após anestesiá-la a paciente, efetuou-se uma incisão sulcular, com

preservação da papila, com duas descargas verticais ao nível dos dentes 13 e 23, obtendo-se um retalho de espessura total em retângulo.

Ao nível do dente 12, confirmou-se a elevada dimensão da lesão, a forma de “gota”, bem como a destruição de toda a tábua vestibular. Com o auxílio de uma cureta efetuou-se a remoção da lesão em bloco e verificou-se o defeito ósseo em palatino. Nesta fase, efetuou-se limpeza do osso íntimo à lesão, com curetas de diferentes tamanhos e instrumentos ultrassônicos. Colou-se Telfa e efetuou-se apicectomia de cerca de 3mm, com posterior obturação retrógrada com MTA.

Ao nível do dente 22, verificou-se total integridade da parede óssea vestibular, tendo sido necessária discreta osteotomia no sentido de tornar possível o acesso à zona apical. Efetuou-se apicectomia de cerca de 2 mm e respetiva obturação retrógrada. Por fim, colocaram-se as membranas 3 membranas de fibrina em locais específicos: uma dentro da loca óssea apical ao dente 12, e outras duas, deitadas sobre a extensão do retalho (do dente 13 para o 11 e outra o dente 21 para o dente 23). Após reposição da tecido gengival, deu-se um primeiro ponto simples no ângulo formado pelas paredes das descargas e depois, efetuaram-se 16 pontos transpapilares em laçada com sutura em nylon 5/0 e dois pontos simples com sutura 6/0.

Após 4 dias, a paciente voltou à consulta para remoção de suturas, no entanto, ao observar a ferida cirúrgica, o Endodontista verificou a presença de flutuação, hemorragia e saída de conteúdo purulento ao nível do 2º quadrante. Contrariamente, ao nível do 1º quadrante foi verificada cicatrização e estabilidade epitelial. Perante esta condição, o Endodontista medicou a paciente com Amoxicilina, 1g, durante uma semana, tendo feito controlo após a toma da medicação, estando já, com sinais de cicatrização. Um mês depois, foi feita nova radiografia periapical que revelou pouca trabeculação óssea, mas ausência de recidiva da lesão apical.

4. DISCUSSÃO

Relativamente aos casos clínicos descritos, utilizou-se o L-PRF como terapêutica adicional no sentido de promover o processo de cura. Os Endodontistas fundamentaram o seu uso com base na evidência científica existente, que defende que o L-PRF é uma fonte de FC potencialmente adjuvante do processo de cicatrização de tecidos moles e duros, cuja eficácia está dependente de protocolo específico. Em virtude dos resultados clínicos obtidos e da literatura existente irá ser feita uma análise teórica com sentido crítico, procurando obter conexões entre a teoria e a prática clínica.

Os critérios de cura da microcirurgia endodôntica enfrentam uma fronteira ténue, quando se tentam definir prognósticos sobre o sucesso ou o insucesso do tratamento endodôntico cirúrgico. Existem critérios clínicos, radiográficos e histológicos de avaliação que definem o sucesso ou o insucesso, bem como critérios com carácter questionável (Molven, O. *et al.*, 2002). No sentido de obter maior domínio sobre o prognóstico de cura, a literatura científica tem vindo a pronunciar-se sobre a utilização de terapêutica regenerativa/ reparativa com biomaterias autólogos, como fonte de promoção de regeneração e reparação tecidular, em particular a utilização de fibrina rica em plaquetas, em situações clínicas particulares (Shubhashini, N. *et al.*, 2013).

Os princípios da microcirurgia endodôntica já introduziram progressos no prognóstico de cura, em cerca de 90% dos casos, valor para um ano de *follow-up* (Chong, BS. *et al.*, 2003). Neste estudo, pensa-se que este rácio, possa ter sido sobrestimado. No entanto, anos mais tarde, Rubstein & Kim (2011), avaliaram casos de sucesso de um ano, após microcirurgia endodôntica, durante cinco a sete anos, tendo reportado, rácios de sucesso em cerca de 91,5%. Estes achados são, ainda, consistentes com os achados de Song, M. *et al.* (2012), que após controlos de seis anos, obtiveram taxas de sucesso em cerca de 93,3%.

A eficácia da microcirurgia endodôntica no processo de cura, depende essencialmente de dois fatores: completa selagem apical e de todo o sistema canal, como forma de barreira à ação bacteriana e tamanho dos defeitos ósseos adjacentes às lesões apicais (Song, M. *et al.*, 2013). Num estudo de Von Arx, *et al.* (2007), avaliou-se a influência das dimensões dos defeitos ósseos, nos *outcomes* de cicatrização após microcirurgia endodôntica. A distância entre a crista marginal e a junção amelo-cementária, demonstrou ter pouca correlação com os resultados de cicatrização, porém,

o tamanho da loca óssea, resultante de lesões previamente existentes, demonstrou ter forte correlação com os resultados de cicatrização; os casos com menor formação óssea e maiores dificuldades de cicatrização, apresentavam depressões ósseas de maiores dimensões, relativamente aos casos em que havia uma recuperação com formação evidente de novo osso, com defeitos ósseos pós-cirúrgicos, respetivamente. Existem outros estudos em que se encontra correlação positiva entre lesões ósseas de menores dimensões, associadas a melhores resultados após microcirurgia endodôntica (Wang, N. *et al.*, 2004). A completa recuperação periapical após a microcirurgia endodôntica, inclui a regeneração de osso alveolar, ligamento periodontal e do cimento (Lin, I. *et al.*, 2010). O perióstio desempenha um papel fundamental, enquanto fonte de células osteocompetentes e ainda funciona como barreira à invasão de células epiteliais para a zona em recuperação (Pecora, G. *et al.*, 2001). Lesões com envolvimento endodôntico exclusivo, têm melhor prognóstico do que lesões com envolvimento periodontal e endodôntico (Sharma, A. *et al.*, 2011), pois quando o ligamento periodontal é preservado, células pluripotenciais adjacentes, de locais com ligamento periodontal saudável, estimulação óssea e a adesão dos tecidos moles (Lin, L. *et al.*, 2010).

Nos casos clínicos do presente estudo, um tem envolvimento periodontal e endodôntico simultâneo, enquanto que os restantes seis casos, apresentaram etiologia endodôntica. Relativamente às dimensões das lesões, apenas um caso apresentou lesão inferior a 5 mm, enquanto que os restantes apresentaram lesões de dimensões elevadas, portanto, superiores ou iguais a 5mm.

As lesões apicais, apresentam um desafio no processo de cura, principalmente quando atingem grandes dimensões (Wang, N. *et al.*, 2004). A utilização do L-PRF, no tratamento de defeitos tecidulares associados a lesões apicais de grandes dimensões e com envolvimento periodontal, parece ser uma terapêutica promissora (Kumar, S. *et al.*, 2015). O L-PRF, demonstra uma libertação sustentada de FC por um período de 21 dias, com um pico de libertação durante 7 dias, que promovem a optimização da vascularização no local da cirurgia, bem como a angiogénese (Inchingolo, F. *et al.*, 2010), e ainda, induzem a proliferação e diferenciação e migração de células responsáveis pela regeneração tecidual (Carroll, R. *et al.*, 2005)

Ao nível da cicatrização dos tecidos moles, o potencial dos concentrados plaquetários está bem documentado (Kumar, S. *et al.*, 2015). O uso de L-PRF é um procedimento eficiente e útil no controlo da morbilidade pós-operatória, concretamente ao nível de desconforto, dor, edema, trismo e no potencial do processo de cicatrização

de tecidos moles, principalmente nos primeiros dias após cirurgias orais e exodontias complicadas (Kumar, Y *et al.*, 2015).

A capacidade do L-PRF funcionar com uma membrana com arquitetura tridimensional, biologicamente ativa, foi demonstrada em vários estudos que revelaram a proliferação e diferenciação de fibroblastos gengivais (Lin, L. *et al.*, 2010). Num estudo de Kumar, S. *et al.*, (2015) o grupo em que se aplicou a terapêutica do L-PRF, obteve menores recessões gengivais e maiores reduções nas profundidades de sondagem, relativamente ao grupo de controlo. Outros estudos clínicos, demonstraram que o L-PRF promove a regeneração tecidual gengival (Thorat, M. *et al.*, 2011). Estes resultados, estabelecem que o L-PRF é um biomaterial autólogo, completamente biocompatível e indutivo, útil para uma ampla gama de aplicações ao nível da engenharia de tecidos (Li, Q. *et al.*, 2013). Além destas vantagens, o L-PRF permite evitar o risco de possível exposição da ferida cirúrgica à cavidade oral bem como todas as consequências inerentes a uma potencial contaminação bacteriana e todo o impacto que esse fator possa ter sobre o processo regenerativo (Inchingolo, F. *et al.*, 2010).

Relativamente aos casos clínicos descritos a cicatrização dos tecidos moles foi um parâmetro em que, de acordo com a experiência dos Endodontistas e com as descrições dos pós-operatórios, por parte dos pacientes, se verificou vantagem terapêutica na utilização do L-PRF, na quase totalidade dos casos. Fundamentalmente foi verificada uma aceleração na cicatrização dos tecidos moles, com estabilidade epitelial evidente, ausência de dor no pós- operatório. Porém, uma das pacientes teve experiência de flutuação, hemorragia e supuração no local da incisão, fator difícil de explicar, pois, ao se tratar de uma incisão que foi feita em dois quadrantes dentários diferentes, a que infetou circunscreveu-se ao local onde previamente à cirurgia se tratava da zona menos afetada. De acordo com Gillitzer, R.& Goebeler, M. (2001), não se conhecem bem as propriedades antibacterianas do L-PRF, dada a existência de poucos estudos com enfoque nesta potencial propriedade da membrana de fibrina.

Quanto à regeneração e reparação dos tecidos duros (ósseos), de acordo com Zhao, J. *et al.* (2011), a razão pela qual o L-PRF promove a reparação óssea, poderá ser explicada pelo facto de que a matriz de fibrina “guia” e estabiliza o processo de cicatrização, com forte regulação da ação da expressão de proteína quinase e na supressão de osteoclastos. Ainda de acordo com Zhao, J. *et al.*, a utilização de L-PRF, simultaneamente como membrana e material de enxerto, promove uma criação de espaço para a formação óssea, sendo osteocondutiva de eventos celulares que lideram a

formação óssea. As técnicas atuais de regeneração óssea guiada, são baseadas em quatro princípios, nomeadamente, a criação e manutenção de espaço, inibição de migração celular indesejada, proteção do coágulo sanguíneo e estabilidade da ferida operatória (Inchingolo, F. *et al.*, 2010). Neste sentido, a escolha do biomaterial de preenchimento é um aspeto essencial com vista ao processo de recuperação. Os biomateriais ideais, devem fornecer características osteocondutoras e osteoindutoras semelhantes a enxertos ósseos autógenos (Vidhale, G. *et al.*, 2015). Independentemente do biomaterial, o sucesso da terapêutica depende de um ambiente bem vascularizado e contido, enfatizando-se a importância do encerramento primário e promoção da angiogénese (Wang, H. *et al.*, 2006).

Segundo Kökdere *et al.* (2015) o L-PRF pode ajudar a promover a regeneração óssea, quando usado de forma isolada, sem recurso a outro material de enxerto. É portanto, um enxerto autógeno, que pode acelerar a cicatrização e encurtar o período de reabilitação. Num estudo de Nevins, M. *et al.* (2005), a completa formação óssea, subsequente de uma loca óssea, após microcirurgia apical, tardou aproximadamente um ano. Ao usar a terapêutica do L-PRF como membrana de regeneração óssea guiada e simultaneamente como material de enxerto, permitiu um acelerar de cicatrização óssea, em condições clínicas semelhantes de aproximadamente 6 meses. Porém vários tipos de enxertos ósseos podem ser usados simultaneamente ao L-PRF (xenoenxertos, aloenxertos), associação que parece ser vantajosa na estabilização do enxerto ósseo, encerramento da ferida cirúrgica, promoção da hemóstase e de formação de novo osso (Gassling, V. *et al.*, 2010, Al-Hamed, SF. *et al.*, 2017). Não obstante, num estudo Garg, AK. *et al.* (2016) obtiveram-se vários casos em que não existiu preenchimento ósseo de cavidades com a utilização de enxertos ósseos simultaneamente à utilização de L-PRF. Em três casos clínicos descritos, foi utilizado osso biológico em associação com o L-PRF, fundamentado na sinergia existente entre a membrana do L-PRF e a estabilização das partículas do enxerto, e também para evitar o colapso de tecidos moles (suporte estrutural) como forma de otimizar o processo de cicatrização. Porém, nos quatro restantes casos clínicos, foi opção do Endodontista não colocar qualquer enxerto ósseo, devido à possibilidade de este material poder “mascarar” o processo de cura e induzir critérios de erro na interpretação do processo de cicatrização.

Existe ainda, alguma controvérsia relativamente à ação do L-PRF na cicatrização de tecidos duros (Kumar, S. *et al.*, 2015). De facto, apesar do efeito aditivo na cicatrização estar bem documentado relativamente aos tecidos moles, o seu potencial

na osteogênese ainda não está garantido (Soffer, E. *et al.*, 2014). Uma possível explicação para estes achados, poderá residir no facto de que embora promova a cicatrização, a estimulação de determinados tipos de células requer a apresentação de biomoléculas de uma maneira estereo espacial específica. A liberação simultânea de múltiplas biomoléculas por parte do L-PRF pode não necessariamente ser capaz de fornecer um ambiente adequado para a osteogênese (Kumar, S. *et al.*, 2015). Estes achados, poderão ser explicados pelas limitações associadas ao L-PRF (Al-Hamed, F. *et al.*, 2017). Vários autores defendem a falta de evidência científica que sustente a ação das membranas de fibrina e que estudos adicionais devem ser realizados no sentido de esclarecer as dúvidas existentes (Kumar, S. *et al.*, 2015). De acordo com Rosamma, J. *et al.* (2014) uma das principais desvantagens da membrana de L-PRF é a sua falta de rigidez e a sua fraca resistência comparativamente a outras membranas de regeneração óssea guiada, podendo este fator ser desvantajoso, devido às forças exercidas na cavidade oral. Por outro lado, o facto de a membrana ser uma fina camada, pode suscetibilizar para uma reabsorção precoce, num ambiente vascularizado (Corso, D. *et al.*, 2009). Também, ainda não é evidente quanto à forma exata de como é que as biomoléculas são distribuídas no coágulo de fibrina, que é fortemente dependente o tempo e velocidade de centrifugação, e seus efeitos na cicatrização (Ghanaati, S. *et al.*, 2014). Mais estudos sobre a atividade do L-PRF na biologia celular, poderiam fornecer uma base mais estável para a aplicação clínica de concentrados plaquetários e seus resultados após aplicações cirúrgicas na cavidade oral (Kumar, S. *et al.*, 2015). Muitos estudos demonstram que o L-PRF tem várias aplicações, no entanto há défice de protocolos mais padronizados, que são fundamentais para otimizar a comparação de resultados, dada a instabilidade associada à técnica de preparação por ser dependente de vários fatores de cariz técnico, por exemplo, o tipo de centrifugadoras, cuja força de rotação difere entre as diferentes máquinas. Uma definição clara da composição do L-PRF é um pré-requisito essencial para garantir a reprodutibilidade da técnica e permitir futuras investigações sobre um protocolo padronizado claramente identificado e reproduzível (Dohan, D. *et al.*, 2010). Não obstante, no presente estudo de descrição de casos, os Endodontistas encontraram fundamentos para o uso da membrana de fibrina rica em plaquetas e leucócitos, pela evidencia científica existente e pela experiência clínica dos achados que têm vindo a obter. O L-PRF parece ser uma opção de tratamento promissora, havendo no entanto necessidade de caracterizar melhor as propriedades deste biomaterial.

5. Conclusão

Os critérios de sucesso da microcirurgia endodôntica são fortemente dependentes do tipo de lesão existente relativamente à sua etiologia, tamanho da lesão, quantidade de osso envolvido, paredes ósseas afetadas, da capacidade de selagem apical face à invasão bacteriana e da condição sistêmica do paciente.

Por si só, a microcirurgia endodôntica já impulsionou o prognóstico de cura mediante a aplicação de técnicas otimizadas pela capacidade de ampliação e iluminação fornecidas pelo microscópio, e também pelo recurso a instrumentos ultrassônicos e microcirúrgicos. No entanto, apesar dos avanços técnicos, a microcirurgia endodôntica traumatiza tecidos moles e também, a presença de lesões circunscritas ao tecido ósseo, induz o trauma deste tecido duro. Como tal, numa patologia cuja resolução se situa numa zona fronteira entre a Endodontia e a Cirurgia Oral, há ainda muito fundamento para a melhoria terapêutica no que diz respeito à regeneração e reparação de tecidos moles e duros (ósseos).

Uma alternativa aceite pelos Endodontistas é a utilização de Fibrina Rica em Plaquetas e Leucócitos. Atualmente, o L-PRF é uma técnica minimamente invasiva, com protocolo simples, baixo custo e resultados clínicos satisfatórios. Constitui um tecido vivo, cujas propriedades são dependentes da combinação de células e fatores de crescimento concentrados no coágulo de fibrina. Do ponto de vista terapêutico, o uso de L-PRF parece ser bastante promissor. É referenciado por vários autores como um biomaterial com potencial no acelerar da cicatrização de tecidos duros e moles.

Embora muitos autores afirmem que o L-PRF tem efeitos notavelmente benéficos na reparação e regeneração de tecidos, mais pesquisas são necessárias para esclarecer os resultados clínicos. A evidência carece, ainda, da realização de estudos como Revisões Sistemáticas e de RCT'S, criteriosamente delineados, com controlos a longo prazo e análises de resultados com imagens radiográficas que permitam inferir sobre a densidade óssea formada.

É ainda necessária a caracterização mais detalhada deste biomaterial e da composição das suas biomoléculas, com vista à compreensão do seu efeito benéfico no processo de cura, após microcirurgia endodôntica.

6. Bibliografia

1. Al-Hamed, F. S., Tawfik, M. A.-M., Abdelfadil, E., & Al-Saleh, M. A. Q. (2017). Efficacy of Platelet-Rich Fibrin After Mandibular Third Molar Extraction: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*.
2. Albanese, A., Licata, ME., Polizzi, B. & Campisi, G. (2013). Platelet – rich fibrin (PRF) in dental and oral surgery: from the wound healing to bone regeneration. *Immunity & Ageing* 10: 23.
3. Bakhtiar, H., Esmaeili, S., Tabatabayi, S., Ellini, M., Nekoofar, M. & Dummer, P. (2016). The structure of the L-PRF, as a optimized scaffold *Journal of Endodontics*. 40:730-70.
4. Bielecky, T., Lubkowska, A., Ehrenfest, D. & Bielecka, A. (2012). Microbicidal properties of leukocyte and platelet rich plasma/fibrin (L-PRP/L-PRF): new perspectives. *Journal of Biological Regulators & Homeostatic Agents*, vol. 26 (2).
5. Carroll, R. J., Amoczky, S. P., Graham, S, O'Connell, S. M. (2005). Characterization of Autologous Growth Factors in Cascade Platelet Rich Fibrin Matrix (PRFM). Edison, NJ: *Musculoskeletal Transplant Foundation*.
6. Chatterjee, A., Agarwal, P. & Subbaiah, S. (2014). Platelet rich fibrin: a autologous bioactive membrane. *Apollo Medicine* II: 24-26.
7. Chong, BS. Pitt Ford, TR., Hudson, MB. (2003). A prospective clinical study of mineral trioxide aggregate and IRM when used as root-end filling materials in endodontic surgery. *International Endodontic Journal* vol. 36: 520-6.
8. Choukroun, J., Diss, A., Simonpieri, A., Girard, M. O., Schoeffler, C., Dohan, S. L., Dohan, D. M. (2006). Platelet-rich fibrin (PRF): A second-generation platelet concentrate. Part V: Histologic evaluations of PRF effects on bone allograft

- maturation in sinus lift. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontology*, 101(3), 299–303.
9. Choukroun, J., Diss, A., Simonpieri, A., Girard, M. O., Schoeffler, C., Dohan, S. L., Dohan, D. M. (2006). Platelet-rich fibrin (PRF): A second-generation platelet concentrate. Part IV: Clinical effects on tissue healing. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontology*, 101(3), 56–60.
 10. Choukroun, J., & Ghanaati, S. (2017). Reduction of relative centrifugation force within injectable platelet-rich-fibrin (PRF) concentrates advances patients' own inflammatory cells, platelets and growth factors: the first introduction to the low speed centrifugation concept. *European Journal of Trauma and Emergency Surgery*, 1–9.
 11. Correia, F., Almeida, RF., Costa, AL., Carvalho, J. & Felino, A. (2012). Levantamento de seio maxilar pela técnica da janela lateral: tipos de enxertos. *Revista Portuguesa de Estomatologia, Medicina Dentária e Cirurgia Maxilofacial* 53 (3): 190-196.
 12. Cruz, P. (2010). Defeitos apicomarginais de etiologia primária endodôntica: seis casos clínicos e protocolo proposto. Tese de Mestrado Integrado. Faculdade de Medicina Dentária, Universidade de Lisboa.
 13. Del Corso, M. Sammartino, G. & Dohan, E. (2009). Clinical evaluation of a modified coronally advanced flap alone or in combination with a platelet – rich fibrin membrane for the treatment of adjacent multiple gingival recessions: a 6 month study. *Journal of Periodontology*. 80: 1694-7.
 14. Desarda, HM., Gurav, NA., Gaikwad, SP. & Inandar, SP. (2013). Platelet rich fibrin: A new hope for regeneration in aggressive periodontitis patients: report of two cases. *Indian Journal of Dental Research* 24 (5): 627-630.
 15. Dietrich, T., Zunker, P., Dietrich, D. & Bernimoulin, JP. (2002). Apicomarginal defects in periradicular surgery: classification and diagnostic aspects. *Oral*

- Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontology*, 94(2).
16. Dohan, D., Bielecki, T., Mishra, A., Borzini, P., Inchingolo, F., Sammartino, G., A. Evert, P. (2012). In Search of a Consensus Terminology in the Field of Platelet Concentrates for Surgical Use: Platelet-Rich Plasma (PRP), Platelet-Rich Fibrin (PRF), Fibrin Gel Polymerization and Leukocytes. *Current Pharmaceutical Biotechnology*, 13(7), 1131–1137.
 17. Dohan, D. M., Choukroun, J., Diss, A., Dohan, S. L., Dohan, A. J. J., Mouhyi, J., & Gogly, B. (2006). Platelet-rich fibrin (PRF): A second-generation platelet concentrate. Part III: Leucocyte activation: A new feature for platelet concentrates? *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontology*, 101(3).
 18. Dohan Ehrenfest, D. M., Del Corso, M., Diss, A., Mouhyi, J., & Charrier, J.-B. (2010). Three-Dimensional Architecture and Cell Composition of a Choukroun's Platelet-Rich Fibrin Clot and Membrane. *Journal of Periodontology*, 81(4), 546–555.
 19. Ehrenfest, D. M. D., Bielecki, T., Jimbo, R., Barbé, G., Corso, M. Del, Inchingolo, F., & Sammartino, G. (2012). Do the Fibrin Architecture and Leukocyte Content Influence the Growth Factor Release of Platelet Concentrates? An Evidence-based Answer Comparing a Pure Platelet-Rich Plasma (P-PRP) Gel and a Leukocyte- and Platelet-Rich Fibrin. *Current Pharmaceutical Biotechnology*, 1145–1152.
 20. Ehrenfest, D. M. D., Bielecki, T., Jimbo, R., Barbé, G., Corso, M. Del, Inchingolo, F., & Sammartino, G. (2006). Platelet Rich Fibrin (PRF): A second – generation platelet concentrate. Part I: Technological concepts in evoution. Part II – Platelet biologic features. Part III – Leucocyte activation: a new feature for platelet concentrates. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontology* (101): 37-51.

21. Fujioka-Kobayashi, M., Miron, R. J., Hernandez, M., Kandam, U., Zhang, Y., & Choukroun, J. (2016). Optimized Platelet-Rich Fibrin with the Low-Speed Concept: Growth Factor Release, Biocompatibility, and Cellular Response. *Journal of Periodontology*, 88(1), 112–121.
22. Garg, AK. (2016). The use of platelet-rich fibrin to enhance the success of bone grafts around dental implants. *Dental Implantology Update*. 11: 17-21.
23. Gassling, V., Douglas, T., Warnke, PH., Açil, Y., Wiltfang, J. & Becker, ST. (2010). Platelet-rich fibrin membranes as scaffolds for periosteal tissue engineering. *Clinical Oral Implants Research*. 21: 543-9.
24. Geeta, I. B., Galagali, G., Sangeeta, K., Pushpa, S., & Noushin, F. (2013). A natural meliorate: Revolutionary tissue engineering in endodontics. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*, 7(11), 2644–2646.
25. Ghanaati, S., Booms, P., Orlowska, A., Kubesch, A., Lorenz, J., Rutkowski, J., Choukroun, J. (2014). Advanced Platelet-Rich Fibrin: A New Concept for Cell-Based Tissue Engineering by Means of Inflammatory Cells. *Journal of Oral Implantology*, 40(6), 679–689.
26. Gillitzer, R. & Goebeler, M. (2001). Chemokines in cutaneous wound healing. *J. Leukoc. Biol*, 69(4), 513-521.
27. Goyal, B., Tewari, S. Duhan, J. & Sehgal, PK. (2011). Comparative evaluation of platelet-rich plasma and guided tissue regeneration membrane in the healing of apicomarginal defects: a clinical study. *Journal of Endodontics*. 37:773-80.
28. Gorni, FG. & Gagliani, MM. (2004). The Outcome of endodontic retreatment: a 2 year follow-up. *Journal of Endodontics vol. 30*: 1-4.
29. He, L. & Lin, Y. (2009). A comparative study of platelet – rich fibrin (PRF) and platelet – rich plasma (PRP) on the effect of proliferation and differentiation of

- rat osteoblasts in vitro. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontology*. 108:707-13.
30. Inchingolo, F., Tatullo, M., Marrelli, M., Inchingolo, A. M., Scacco, S., Inchingolo, A. D., Cagiano, R. (2010). Trial with platelet-rich fibrin and Bio-Oss used as grafting materials in the treatment of the severe maxillar bone atrophy: Clinical and radiological evaluations. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, 14(12), 1075–1084.
31. Jayalakshmi, K.B., Agarwal, S., Singh, M., Vishwanath, B.T., Krishna, A. & Agrawal, R. (2012). Platelet Rich Fibrin with B- Tricalcium Phosphate – A Novel Approach for Bone Argumentation in Chronic Periapical Lesion: A Case Report. *Journal of Hindawi Publishing Corporation*. 6 (12).
32. Keswani, D. & Pandey, RK. (2013). Revascularization of the immature tooth with a necrotic pulp using platelet – rich fibrin: a case report. *International Endodontic Journal* 46: 1096-1104.
33. Khiste, SV. & Tari, RN. (2013). Platelet rich fibrin as a biofuel for tissue regeneration. *Hindawi Publishing Corporation*. April, p. 1-6.
34. Kim, S. & Kratchman, S. (2006). Modern Endodontic Surgery Concepts and Practice: A Review. *Journal of Endodontics* vol. 32 (7).
35. Klement, G. L., Shai, E., and Varon, D., (2013). “The role of platelets in angiogenesis,” in *Platelets*, ed A. D. Michelson (San Diego, CA: Elsevier), 487–502.
36. Kobayashi, M., Kawase, T., Okuda, K., Wolff, L. F., & Yoshie, H. (2015). In vitro immunological and biological evaluations of the angiogenic potential of platelet-rich fibrin preparations: a standardized comparison with PRP preparations. *International Journal of Implant Dentistry*, 1(1), 31.

37. Kobayashi, E., Flückiger, L., Fujioka-Kobayashi, M., Sawada, K., Sculean, A., Schaller, B., & Miron, R. J. (2016). Comparative release of growth factors from PRP, PRF, and advanced-PRF. *Clinical Oral Investigations*, 20(9), 2353–2360.
38. Kökdere, N. N., Baykul, T., & Findik, Y. (2015). The use of platelet rich fibrin (PRF) and PRF mixed particulated autogenous bone graft in the treatment of bone defects: An experimental and histomorphometrical study. *Dental Research Journal*, 12(5), 418–424.
39. Kumar, S., Dhiman, M., Duban, J., Sangwan, P. & Tewari, S. (2015). Effect of Platelet-rich Fibrin on Healing of Apicomarginal Defects: A Randomized Controlled Trial. *Journal of Endodontics* 15: 1-7.
40. Kvist, T., Peterson, A., Axelsson, S., Davidson, T. Frisk, F. & Sandberg, H. (2012). Radiological diagnosis of periapical bone tissue lesions in endodontics: a systematic review. *International Endodontic Journal* (45) 783-801.
41. Li, Q., Pan, S., Dangaria, S. J., Gopinathan, G., Kolokythas, A., Chu, S., Luan, X. (2013). Platelet-Rich Fibrin Promotes Periodontal Regeneration and Enhances Alveolar Bone Augmentation. *Biomed Research International*, 2013.
42. Lin, L., Chen, MY., Ricucci, D. & Rosenberg, PA. (2010). Guided tissue regeneration in periapical surgery. *Journal of Endodontics* 36: 618-25.
43. Lindhe, J., Lang, NP. & Karring, T. (2008). Clinical Periodontology and Implant Dentistry. 5th edition Hoboken, NJ: Wiley-Blackwell.
44. Lubow, RM., Wayman, BE. & Cooley, RL. (1984). Endodontic flap design: analysis and recommendations for current usage. *Oral surgery journal vol. 58*: 207-12.

45. Martínez, C. E., Smith, P. C., & Palma Alvarado, V. A. (2015). The influence of platelet-derived products on angiogenesis and tissue repair: A concise update. *Frontiers in Physiology*, 6(OCT), 1–7.
46. Masuki, H., Okudera, T., Watanebe, T., Suzuki, M., Nishiyama, K., Okudera, H., Kawase, T. (2016). Growth factor and pro-inflammatory cytokine contents in platelet-rich plasma (PRP), plasma rich in growth factors (PRGF), advanced platelet-rich fibrin (A-PRF), and concentrated growth factors (CGF). *International Journal of Implant Dentistry*, 2(1), 19.
47. Miron, R. J., Fujioka-Kobayashi, M., Bishara, M., Zhang, Y., Hernandez, M., & Choukroun, J. (2017). Platelet-Rich Fibrin and Soft Tissue Wound Healing: A Systematic Review. *Tissue Engineering Part B: Reviews*, 23(1), 83–99.
48. Molven, O., Halse, A., Fristad, I. & MacDonald – Jankowski, D. (2002). Periapical changes following root canal treatment observed 20-27 year postoperatively. *International Endodontic Journal* 35: 784-90.
49. Nair, PN. (2000). New perspectives on radicular cysts: do they heal? *International Endodontic Journal* vol. 31: 155-60.
50. Neaverth, E.J & Burg, A. (2013). Decompression of large periapical cystic lesions. *Journal of Endodontics*, vol. 8 (4) 175-182.
51. Nevins, M., Giannobile, WV., McGuire, MK., Kao, RT., Melloning, JT. & Hinrichs, JE. (2005). Platelet derived growth factor stimulates bone fill and rate of attachment level gain: Results of large multicenter randomized controlled trial. *Journal of Periodontal*. 76:2205-15.
52. Papli, R. & Chen, S. (2007). Surgical treatment of infrabony defects with autologous platelet concentrate or bioabsorbable barrier membrane: a prospective case series. *Journal of Periodontology*. 78:185-93.

53. Pecora, G., De Leonardis, D. & Ibrahim, N. (2001). The use of calcium sulphate in the surgical treatment of a “through and through” periradicular lesions. *International Endodontic Journal* 34: 189-97.
54. Pinto, N., Harnish, A., Cabrera, C., Andrade, C., Druttman, T. & Brizuela, C. (2017). An Innovative Regenerative Endodontic Procedure Using Leukocyte and Platelet- Rich Fibrin Associated with Apical Surgery: A Case Report. *Journal of Endodontics* 8 (13): 1-7.
55. Quirynen, M., Ehrenfest, DM., Pinto, NR., Pereda, A., Jimenez, P., Wang, HL. & Corso, MD. (2018). The impact of the centrifuge characteristics and centrifugation protocols on the cells, growth factors, and fibrin architecture of a leukocyte-and platelet – rich fibrin (L-PRF) clot and membrane. *Platelets* 29 (2): 171-184.
56. Rosamma Joseph, V., Sam, G., & Vijay Amol, N. (2014). Clinical evaluation of autologous platelet rich fibrin in horizontal alveolar bony defects. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*, 8(11).
57. Rubinstein, R.A. & Kim, S. (2000). Short – term observation of the results of endodontic surgery with the use of a surgical operation microscope and Super – EBA as root-end filling material. *Journal of Endodontics* vol. 25: 43-8.
58. Saravanakumar, B., Julius, A., Sarumathi, T., Aarthinisha, V. & Manisundar, N. (2014). Therapeutic Effects and Concepts in the Use of Platelet – Rich Fibrin (PRF) on Alveolar Bone Repair – a Literature Review. *Middle – East Journal of Scientific Research* 19 (5): 669-673.
59. Sharma, A. & Pradeep, AR. (2011). Treatment of 3 – wall intrabony defects in patients with chronic periodontitis with autologous platelet – rich fibrin: a randomized controlled clinical trial. *Journal of Periodontology*. 82: 1705-12.

60. Shubhashini, N., Kumar, R., Shija, A. & Razvi, S. (2013). Platelet – rich fibrin in treatment of periapical lesions: a novel therapeutic option. *The Chinese Journal of Dental Research*, vol. 16 (1).
61. Shivashankar, V. Y., Johns, D. A., Vidyanath, S., Kumar, M.R. (2012). Platelet Rich Fibrin in the revitalization of tooth with necrotic pulp and open apex. *J Conserv Dent*; 15:395-398.
62. Soffer, E., Ouhayoun, JP.& Anagnostou, F. (2014). Fibrin sealants and platelet preparations in bone and periodontal healing. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology Endodontics*. 95:521-8.
63. Sood, V., Masamatti, SS., Kharti, M., Kumar, A. & Jindal, V. (2012). Platelet Concentrates – Part I. *Indian Journal of Dental Sciences* 4 (2): 119-123.
64. Song, M., Kim, S., Shin, S., Kim, H. & Kim, E. (2013). The influence of bone Tissue Deficiency on the Outcome of Endodontic Microsurgery: A Prospective Study. *Journal of Endodontics* 39 (11).
65. Song, M. & Kim, E. (2011). Success and failure of endodontic microsurgery. *Journal of Korean Academy and Conservative Dentistry* 36: 465-76.
66. Song, M., Chung, W., Lee, S. & Kim, E. (2012). Long – Term Outcome of the Cases Classified as Successes Based on Short – term Follow – up in Endodontic Microsurgery. *Journal of Endodontics* 38 (9).
67. Sunitha R, & Munirathnam, N. (2008). Platelet-rich fibrin: Evolution of a second generation platelet concentrate. *Indian J Dent Res*; 19:42-6.
68. Taschieri, S., Del Fabbro, M., Corbella, S. Sequeira-Byron, P., Tsesis, I., Rosen, E. & Lolato, A. (2016). Endodontic procedures for retreatment of periapical lesions: Review. *Cochrane Database of Systematic Reviews*. Issue 10. Art. CD005511.

69. Thorat, M., Pradeep, A. R., & Pallavi, B. (2011). Clinical effect of autologous platelet-rich fibrin in the treatment of intra-bony defects: A controlled clinical trial. *Journal of Clinical Periodontology*, 38(10), 925–932.
70. Toffler, M., Toscano, N. & Holtzclaw, W. (2010). Osteotome – mediated sinus floor elevating using only platelet – rich fibrin: an early report on 110 patients. *Implant dentistry* 19 (5): 447-456.
71. Uppada, U., Kalakonda, B., Koppolu, P, Varma, N., Palakurthy, K., Manchikanti, V., Prasad, S., Samar, S. & Swapna, L. (2017). Combination of hydroxyapatite, platelet rich fibrin and amnion membrane as a novel therapeutic option in regenerative periapical endodontic surgery: Case Series. *International Journal of Surgery* (37): 139-144.
72. Velvart P., Ebner – Zimmermann, U. & Ebner, JP. (2004). Comparison of long-term papilla healing following sulcular full thickness flap and papilla base flap in endodontic surgery. *International Endodontic Journal* vol. 37: 687-93.
73. Vidhale, G., Jain, D., Jain, S. & Godhane, A. (2015). Management of Radicular Cyst Using Platelet – Rich Fibrin & Iliac Bone Graft – A case report. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*, vol. 9 (6).
74. Von Arx T., Jensen SS., Hanni, S. & Friedman, S. (2012). Five year longitudinal assessment of the prognosis of apical microsurgery. *Journal of Endodontics*. 38: 570-9.
75. Von Arx T., Jensen SS. & Hanni, S. (2007). Correlation of bone defect dimensions with healing outcome one year after apical surgery. *Journal of Endodontics*. 33: 1044-8.
76. Walker, T.L. & Davis, M.S. (2014). Treatment of large periapical lesions using cannulization trough the involved teeth. *Journal of Endodontics* vol. 10 (5): 215-220.

77. Wang, N., Knight, K., Dao, T. & Friedman, S. (2004). Treatment outcome in endodontics – The Toronto Study: Phases I and II: apical surgery. *Journal of Endodontics*. 30: 751-61.
78. Wu, C. L., Lee, S. S., Tsai, C. H., Lu, K. H., Zhao, J. H., & Chang, Y. C. (2012). Platelet-rich fibrin increases cell attachment, proliferation and collagen-related protein expression of human osteoblasts. *Australian Dental Journal*, 57(2), 207–212.
79. Zhao, J., Tsai, C. & Chang, Y. (2011). Management of radicular cysts using platelet – rich fibrin and bioactive glass: a report of two cases. *Journal of the Formosan Medical Association* (10): 1-7.
80. Zimmermann, U., Ebner, JP. & Velvart, P. (2001). Papilla healing following sulcular full thickness flap in endodontic surgery *Journal of Endodontics* vol. 27: 219.

7. Anexos

A documentação dos casos clínicos descritos, foi feita com base em radiografias e fotografias intra – operatórias. A documentação de toda a sequência clínica, de alguns casos, não foi possível devido a questões técnicas, tais como avarias na máquina fotográfica ou ausência de radiografias, por estarem na posse do Médico Dentista Generalista, que efetuou encaminhamento para Endodontista. A documentação do caso clínico 1 não foi possível de obter.

Caso Clínico 2.



Fig. 1 - Radiografia periapical final, após microcirurgia Endodôntica.

Caso Clínico 3.



Fig.1 – Radiografia periapical inicial, Fig. 2 – Fístula extra-oral, Fig. 3 – Imagem da lesão apical e Fig. 4 – Imagem da loca óssea.



Fig. 5 – Colocação da membrana de L-PRF na loca óssea, Fig. 6 – Colocação da membrana de L-PRF na extensão do retalho, Fig. 7 – Aspecto final do reposicionamento de tecidos com suturas em nylon.



Fig. 6 – Aspetto dos tecidos após remoção de Suturas (5 dias), Fig. 7 – Aspetto dos tecidos após um mês e Fig. 8 – Fístula extra-oral com sinais evidentes de cicatrização, após antibioterapia.

Caso Clínico 4.



Fig. 1 - Radiografia periapical inicial, Fig. 2 - Radiografia periapical final, após microcirurgia Endodôntica.

Caso Clínico 5.

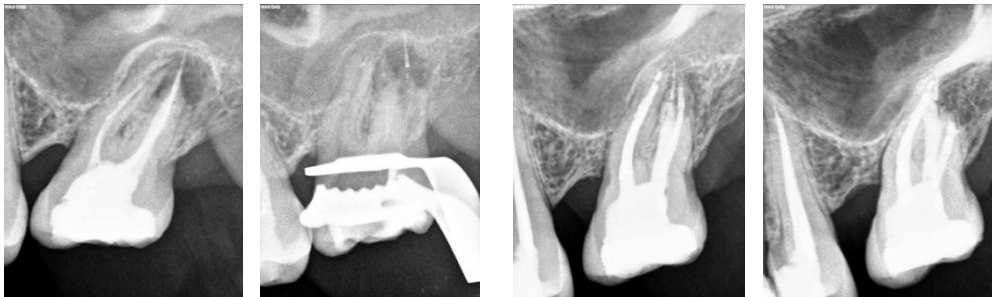


Fig. 1 – Radiografia periapical inicial com lesão apical ao nível da raiz palatina, Fig. 2 – Radiografia periapical após remoção de gutta - percha, Fig. 3 – Radiografia periapical com lesão apical ao nível da raiz distal, Fig. 4 – Radiografia periapical após microcirurgia endodôntica.

Caso Clínico 6.

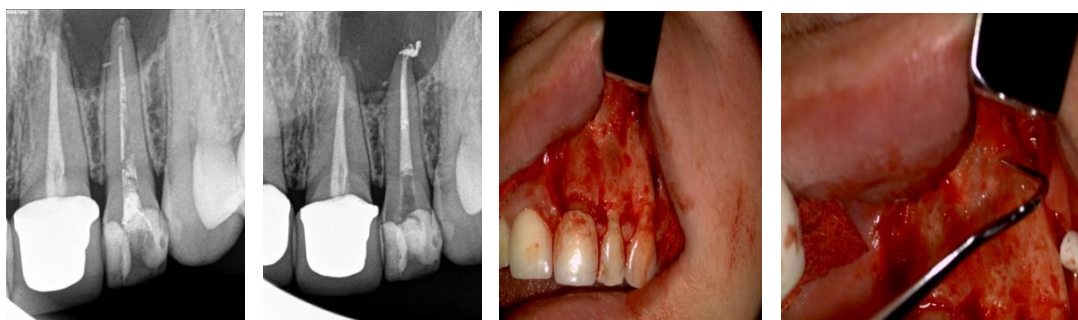


Fig. 1. Radiografia periapical inicial, Fig. 2 – Radiografia periapical ilustrativa do re-tratamento efetuado ao nível do dente 22, Fig. 3 – Imagem do desenho final do retalho de espessura total, Fig. 4 – Imagem da lesão periapical.

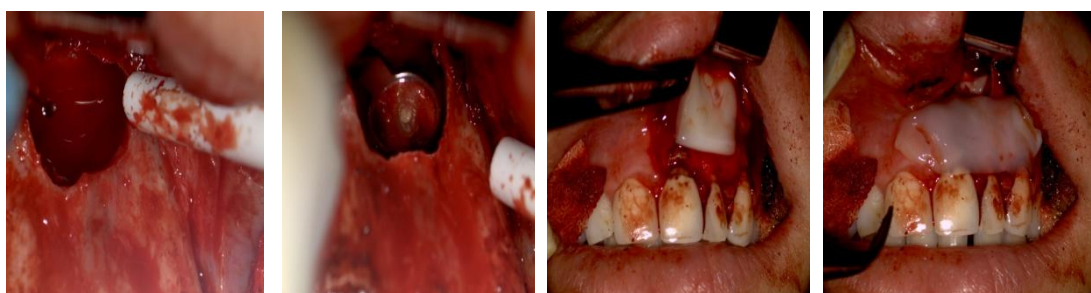


Fig. 5 – Imagem da loca óssea, Fig. 6 – Aspeto da zona apical do dente 21, Fig. 7 – Colocação da membrana de L-PRF sobre a loca óssea, Fig.8 – Colocação da membrana de L-PRF em toda a extensão do retalho.

Caso Clínico 7.



Fig. 1 – Radiografia periapical inicial.

